

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2005-533026

(P2005-533026A)

(43) 公表日 平成17年11月4日(2005.11.4)

(51) Int. Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
A 61 K 47/48	A 61 K 47/48	4 C 0 7 6
A 61 K 31/337	A 61 K 31/337	4 C 0 8 6
A 61 P 35/00	A 61 P 35/00	4 J 0 0 5
A 61 P 43/00	A 61 P 43/00 1 2 3	
C 0 8 G 65/333	C 0 8 G 65/333	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 32 頁)		

(21) 出願番号	特願2004-505358 (P2004-505358)	(71) 出願人	504039155
(86) (22) 出願日	平成15年2月11日 (2003. 2. 11)		イミュノジェン・インコーポレーテッド
(85) 翻訳文提出日	平成17年1月17日 (2005. 1. 17)		アメリカ合衆国マサチューセッツ州021
(86) 国際出願番号	PCT/US2003/002675		39-4239, ケンブリッジ, シドニー
(87) 国際公開番号	W02003/097625		・ストリート 128
(87) 国際公開日	平成15年11月27日 (2003. 11. 27)	(74) 代理人	100089705
(31) 優先権主張番号	10/144, 042		弁理士 社本 一夫
(32) 優先日	平成14年5月14日 (2002. 5. 14)	(74) 代理人	100076691
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 増井 忠式
(81) 指定国	EP (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SI, SK, TR), AU, CA, JP, NZ	(74) 代理人	100075270
			弁理士 小林 泰
		(74) 代理人	100080137
			弁理士 千葉 昭男
		(74) 代理人	100096013
			弁理士 富田 博行
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 ポリエチレングリコール含有タキサンを含む細胞毒性剤およびその治療用途

(57) 【要約】

細胞結合剤に連結された一つ以上のポリエチレングリコール含有タキサンを含む細胞毒性剤。(A)細胞毒性量の、連結基により細胞結合剤に共有結合された一つ以上のポリエチレングリコール含有タキサン、および(B)薬学的に許容できるキャリアー、希釈剤もしくは賦形剤を含む、選択した細胞集団を殺すための治療用組成物。細胞結合剤に連結された一つ以上のポリエチレングリコール含有タキサンを含む細胞毒性剤の有効量を標的細胞または標的細胞を含有する組織に接触させることを含む選択した細胞集団を殺す方法。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

C-7 位または C-10 位にポリエチレングリコール含有連結基を含むタキサン。

【請求項 2】

ポリエチレングリコール含有連結基が連結成分としてチオールまたはジスルフィドを含む、請求項 1 に記載のタキサン。

【請求項 3】

ポリエチレングリコール含有連結基が、線状または分岐状、芳香族または複素環式基である側鎖上に有する請求項 2 に記載のタキサン。

【請求項 4】

ポリエチレングリコール含有連結基が開裂可能である、請求項 1 に記載のタキサン。

【請求項 5】

ポリエチレングリコール含有連結基が酸不安定性、光不安定性、ペプチダーゼ不安定性、またはエステラーゼ不安定性である、請求項 1 に記載のタキサン。

【請求項 6】

ポリエチレングリコール含有連結基が開裂可能でない、請求項 1 に記載のタキサン。

【請求項 7】

ポリエチレングリコール含有連結基を含む置換基が、下記の群から選択される、請求項 1 に記載のタキサン。すなわち、

$-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{O}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$, 20

$-\text{CO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{O}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$,

$-\text{CONR}_{12}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{O}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$,

$-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OCO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$,

$-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{NR}_{12}\text{CO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$,

$-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OCONR}_{12}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$,

$-\text{CO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OCO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$,

$-\text{CO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{NR}_{12}\text{CO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$,

$-\text{CO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OCONR}_{12}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$,

$-\text{CONR}_{12}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OCO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$,

$-\text{CONR}_{12}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{NR}_{12}\text{CO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$ 30

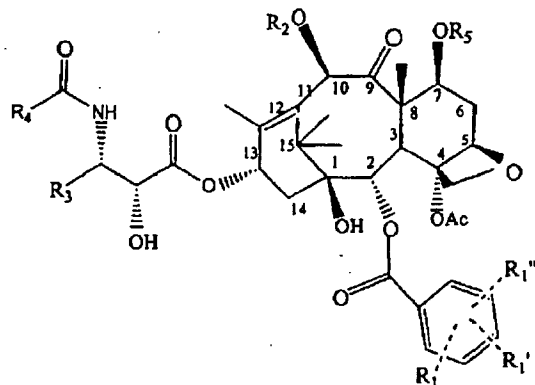
$-\text{CONR}_{12}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OCONR}_{12}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$

、
 $-\text{CO}-\text{モルホリノ}-\text{X}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{SZ}$ 、 $-\text{CO}-\text{ピペラジノ}-\text{X}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{SZ}$ 、 $-\text{CO}-\text{ペリジノ}-\text{X}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{SZ}$ 、および $-\text{CO}-\text{N}-\text{メチルピペリジノ}-\text{X}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{SZ}$ 、(式中、Z は H または SR であり、X は 1 ~ 10 個の炭素原子を有する線状アルキルまたは分岐状アルキルであり、R および R_{12} が同じかまたは異なりそして 1 ~ 10 個の炭素原子を有する線状アルキル、分岐状アルキルもしくは環状アルキルまたは 1 ~ 10 個の炭素原子を有する単一もしくは置換アリールまたは複素環であり、そして R_{12} はさらに H であることができ、 R_{13} および R_{14} が同じかまたは異なり、H もしくは 1 ~ 10 個の炭素原子を有する線状アルキル、もしくは分岐状アルキルもしくは環状アルキル、またはアリールを表し、l は 0 もしくは 1 ~ 10 の整数であり、m は 1 ~ 10 の整数であり、そして n は 2 ~ 1000 である。) である。 40

【請求項 8】

式(I):

【化1】



(I)

(式中、 R_2 H、電子吸引基、または電子供与基であり； R_1' および R_1'' は同じかまたは異なり、H、電子吸引基、または電子供与基であり； R_2 は

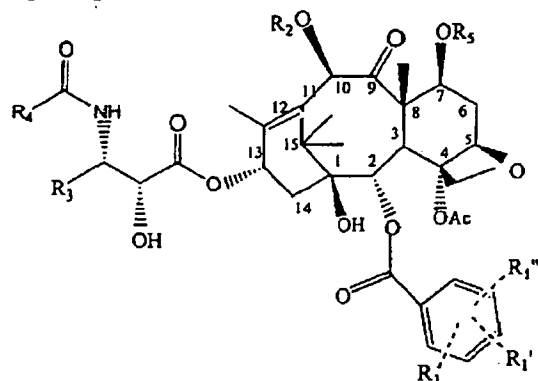
- $(CR_{13}R_{14})_1(CH_2)_m(CR_{13}R_{14})_1(OCH_2CH_2)_nO(CR_{13}R_{14})_1(CH_2)_m(CR_{13}R_{14})_1SZ$,
 - $CO(CR_{13}R_{14})_1(CH_2)_m(CR_{13}R_{14})_1(OCH_2CH_2)_nO(CR_{13}R_{14})_1(CH_2)_m(CR_{13}R_{14})_1SZ$,
 - $CONR_{12}(CR_{13}R_{14})_1(CH_2)_m(CR_{13}R_{14})_1(OCH_2CH_2)_nO(CR_{13}R_{14})_1(CH_2)_m(CR_{13}R_{14})_1SZ$,
 - $(CR_{13}R_{14})_1(CH_2)_m(CR_{13}R_{14})_1(OCH_2CH_2)_nOCO(CR_{13}R_{14})_1(CH_2)_m(CR_{13}R_{14})_1SZ$,
 - $(CR_{13}R_{14})_1(CH_2)_m(CR_{13}R_{14})_1(OCH_2CH_2)_nNR_{12}CO(CR_{13}R_{14})_1(CH_2)_m(CR_{13}R_{14})_1SZ$,
 - $(CR_{13}R_{14})_1(CH_2)_m(CR_{13}R_{14})_1(OCH_2CH_2)_nOCONR_{12}(CR_{13}R_{14})_1(CH_2)_m(CR_{13}R_{14})_1SZ$,
 - $CO(CR_{13}R_{14})_1(CH_2)_m(CR_{13}R_{14})_1(OCH_2CH_2)_nOCO(CR_{13}R_{14})_1(CH_2)_m(CR_{13}R_{14})_1SZ$,
 - $CO(CR_{13}R_{14})_1(CH_2)_m(CR_{13}R_{14})_1(OCH_2CH_2)_nNR_{12}CO(CR_{13}R_{14})_1(CH_2)_m(CR_{13}R_{14})_1SZ$,
 - $CO(CR_{13}R_{14})_1(CH_2)_m(CR_{13}R_{14})_1(OCH_2CH_2)_nOCONR_{12}(CR_{13}R_{14})_1(CH_2)_m(CR_{13}R_{14})_1SZ$,
 - $CONR_{12}(CR_{13}R_{14})_1(CH_2)_m(CR_{13}R_{14})_1(OCH_2CH_2)_nOCO(CR_{13}R_{14})_1(CH_2)_m(CR_{13}R_{14})_1SZ$,
 - $CONR_{12}(CR_{13}R_{14})_1(CH_2)_m(CR_{13}R_{14})_1(OCH_2CH_2)_nNR_{12}CO(CR_{13}R_{14})_1(CH_2)_m(CR_{13}R_{14})_1SZ$
- $CONR_{12}(CR_{13}R_{14})_1(CH_2)_m(CR_{13}R_{14})_1(OCH_2CH_2)_nOCONR_{12}(CR_{13}R_{14})_1(CH_2)_m(CR_{13}R_{14})_1SZ$ 30

-CO-モルホリノ- $X(OCH_2CH_2)_nSZ$ 、-CO-ピペラジノ- $X(OCH_2CH_2)_nSZ$ 、-CO-ピペリジノ- $X(OCH_2CH_2)_nSZ$ 、および-CO-N-メチルピペラジノ- $X(OCH_2CH_2)_nSZ$ 、であり（式中、ZはHまたはSRであり、Xは1～10個の炭素原子を有する線状アルキルまたは分岐状アルキルであり、Rおよび R_{12} は同じかまたは異なり、1～10個の炭素原子を有する線状アルキル、分岐状アルキルもしくは環状アルキルであり、または1～10個の炭素原子を有する単一もしくは置換アリールまたは複素環であり、そして R_2 は加えてHであることができ、 R_1 、および R_{14} が同じかまたは異なり、Hもしくは1～10個の炭素原子を有する線状アルキル、もしくは分岐状アルキルもしくは環状アルキル、またはアリールを表し、lは0もしくは1～10の整数であり、mは1～10の整数であり、そしてnは2～1000であり、 R_3 40 はアリール、または1～10個の炭素原子を有する線状、分岐状または環状アルキルであり、 $R_4-OC(CH_3)_3$ もしくは $-C_6H_5$ ；であり； R_5 はHであり、1～10個の炭素原子を有する線状、分岐状、もしくは環状エステルもしくはエーテルであり、または式- $CNR_{10}R_{11}$ のカルバメート（式中、 R_{10} および R_{11} は同じかまたは異なり、H、1～10個の炭素原子を有する線状、分岐状もしくは環状アルキル、または1～10個の炭素原子を有する単一もしくは置換アリールである）である。）の化合物。

【請求項9】

式(I)：

【化2】



(I)

(式中、 R_1 はH、電子吸引基、または電子供与基であり、 R_1' および R_1'' は同一または異なり、H、電子吸引基、または電子供与基であり、 R_2 はH、1～10個の炭素原子を有する複素環、線状、分岐状、または環状エステルもしくはエーテルまたは式 $-\text{CNR}_{10}\text{R}_{11}$ (式中、 R_{10} および R_{11} は同一または異なり、H、1～10個の炭素原子を有する線状、分岐状、または環状アルキル、または1～10個の炭素原子を有する無置換もしくは置換アリールである) のカルバメートであり、 R_3 はアリールであり、または1～10個の炭素原子を有する線状、分岐状、または環状アルキルであり、 R_4 は $-\text{OC}(\text{CH}_3)_3$ または $-\text{C}_6\text{H}_5$ であり、そして R_5 は、

$-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{O}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$ 、
 $-\text{CO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{O}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$ 、
 $-\text{CONR}_{12}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{O}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$ 、
 $-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OCO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$ 、
 $-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{NR}_{12}\text{CO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$ 、
 $-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OCONR}_{12}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$ 、
 $-\text{CO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OCO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$ 、
 $-\text{CO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{NR}_{12}\text{CO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$ 、
 $-\text{CO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OCONR}_{12}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$ 、
 $-\text{CONR}_{12}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OCO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$ 、
 $-\text{CONR}_{12}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{NR}_{12}\text{CO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$

$-\text{CONR}_{12}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OCONR}_{12}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$

$-\text{CO}-\text{モルホリノ}-\text{X}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{SZ}$ 、 $-\text{CO}-\text{ピペラジノ}-\text{X}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{SZ}$ 、 $-\text{CO}-\text{ピペリジノ}-\text{X}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{SZ}$ および $-\text{CO}-\text{N-メチルピペラジノ}-\text{X}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{SZ}$ (式中、ZはHまたはSRであり、Xは1～10個の炭素原子を有する線状アルキルもしくは分岐状アルキルであり、Rおよび R_{12} は同じかまたは異なり、1～10個の炭素原子を有する線状アルキル、分岐状アルキルもしくは環状アルキル、または1～10個の炭素原子を有する無置換もしくは置換アリールあるいは複素環であり、さらに R_{12} はHであることができ、 R_{13} および R_{14} は同じかまたは異なりHまたは1～10個の炭素原子を有する線状アルキル、分岐状アルキルもしくは環状アルキルであり、あるいはアリールであり、lは0または1～10の整数であり、mは1～10の整数であり、そしてnは2～1000である。)の化合物。

【請求項10】

R_2 はH、F、 NO_2 、CN、Cl、 CHF_2 、 CF_3 、 $-\text{OCH}_3$ 、 $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{NR}_6\text{R}_7$ 、または $-\text{OR}_8$ である、請求項8または9に記載の化合物。

【請求項11】

10

30

40

50

R_1 が OMe、OEt、Cl、F、NO₂ または CF₃ である、請求項 8 または 9 に記載の化合物。

【請求項 12】

R_1 がメタ位にあり、 R_1' が OMe であり、そして R_1'' が H である、請求項 8 または 9 に記載の化合物。

【請求項 13】

R_1 および R_1'' が同じかまたは異なり、H、F、NO₂、CN、Cl、CHF₂、CF₃、-OCH₃、OCH₂CH₃、-NR₆R₇、または -OR₆ であり、式中、 R_6 および R_7 は同じかまたは異なり、各々 H、1～10 個の炭素原子を有する線状、分岐状、もしくは環状アルキル基であり、または 1～10 個の炭素原子を有する無置換または置換アリールであり、そして R_8 は 1～10 個の炭素原子を有する線状、分岐状、もしくは環状アルキル基である、請求項 8 または 9 に記載の化合物。 10

【請求項 14】

R_6 および R_7 は同じかまたは異なり、各々 H、または 1～4 個の炭素原子を有するアルキルもしくはアリールである、請求項 13 に記載の化合物。

【請求項 15】

-NR₆R₇ がジメチルアミノ、ジエチルアミノ、ジプロピルアミノ、またはジブチルアミノであり、ブチル成分が第一級、第二級、第三級またはイソブチルである、請求項 13 に記載の化合物。

【請求項 16】

R_3 が -CH₂CH(CH₃)₂ または -CH=C(CH₃)₂ である、請求項 8 または 9 に記載の化合物。 20

【請求項 17】

R_4 が -OC(CH₃)₃ または -C₆H₅ である、請求項 8 または 9 に記載の化合物。

【請求項 18】

R_5 が H、-COCH₃、-COCH₂CH₃ および -COCH₂CH₂CH₃ である、請求項 8 に記載の化合物。

【請求項 19】

R_2 が H、-COCH₃、-COCH₂CH₃ および -COCH₂CH₂CH₃ である、請求項 9 に記載の化合物。

【請求項 20】

R_5 が H、または -CONHCH₂CH₃、-CONHCH₂CH₂CH₃、-CO-モルホリノ、-CO-ピペラジノ、-CO-ピペリジノまたは -CO-N-メチルピペラジノである請求項 8 に記載の化合物。

【請求項 21】 30

R_2 が H、または -CONHCH₂CH₃、-CONHCH₂CH₂CH₃、-CO-モルホリノ、-CO-ピペラジノ、-CO-ピペリジノ、または -CO-N-メチルピペラジノである、請求項 9 に記載の化合物。

【請求項 22】

タキサンうちの少なくとも一つの C-7 位または C-10 位にポリエチレングリコール含有連結基により細胞結合剤に結合された一種以上のタキサンを含む細胞毒性剤。

【請求項 23】

ポリエチレングリコール含有連結基が、連結成分としてチオールまたはジスルフィドを含む、請求項 22 に記載の細胞毒性剤。

【請求項 24】

ポリエチレングリコール含有連結基が、線状もしくは分岐状、芳香族基もしくは複素環基である側鎖上にある、請求項 22 に記載の細胞毒性剤。 40

【請求項 25】

少なくとも一種のタキサンが開裂可能な連結基により細胞結合剤に連結されている、請求項 22 に記載の細胞毒性剤。

【請求項 26】

開裂可能な連結剤が、酸不安定性、光不安定性、ペプチダーゼ不安定性またはエステラーゼ不安定性である、請求項 25 に記載の細胞毒性剤。

【請求項 27】

少なくとも一種のタキサンが開裂可能でない連結基により細胞結合剤に連結されている、請求項 22 に記載の細胞毒性剤。 50

【請求項 28】

ポリエチレン含有連結基を含む置換基が下記からなる群から選択される請求項 22 に記載の細胞毒性剤。すなわち、

- $(CR_1R_4)_1(CH_2)_m(CR_1R_4)_1(OCH_2CH_2)_nO(CR_1R_4)_1(CH_2)_m(CR_1R_4)_1SZ$ 、
 - $CO(CR_1R_4)_1(CH_2)_m(CR_1R_4)_1(OCH_2CH_2)_nO(CR_1R_4)_1(CH_2)_m(CR_1R_4)_1SZ$ 、
 - $CONR_2(CR_1R_4)_1(CH_2)_m(CR_1R_4)_1(OCH_2CH_2)_nO(CR_1R_4)_1(CH_2)_m(CR_1R_4)_1SZ$ 、
 - $(CR_1R_4)_1(CH_2)_m(CR_1R_4)_1(OCH_2CH_2)_nOCO(CR_1R_4)_1(CH_2)_m(CR_1R_4)_1SZ$ 、
 - $(CR_1R_4)_1(CH_2)_m(CR_1R_4)_1(OCH_2CH_2)_nNR_2CO(CR_1R_4)_1(CH_2)_m(CR_1R_4)_1SZ$ 、
 - $(CR_1R_4)_1(CH_2)_m(CR_1R_4)_1(OCH_2CH_2)_nONR_2(CR_1R_4)_1(CH_2)_m(CR_1R_4)_1SZ$ 、
 - $CO(CR_1R_4)_1(CH_2)_m(CR_1R_4)_1(OCH_2CH_2)_nOCO(CR_1R_4)_1(CH_2)_m(CR_1R_4)_1SZ$ 、
 - $CO(CR_1R_4)_1(CH_2)_m(CR_1R_4)_1(OCH_2CH_2)_nNR_2CO(CR_1R_4)_1(CH_2)_m(CR_1R_4)_1SZ$ 、
 - $CO(CR_1R_4)_1(CH_2)_m(CR_1R_4)_1(OCH_2CH_2)_nONR_2(CR_1R_4)_1(CH_2)_m(CR_1R_4)_1SZ$ 、
 - $CONR_2(CR_1R_4)_1(CH_2)_m(CR_1R_4)_1(OCH_2CH_2)_nOCO(CR_1R_4)_1(CH_2)_m(CR_1R_4)_1SZ$ 、
 - $CONR_2(CR_1R_4)_1(CH_2)_m(CR_1R_4)_1(OCH_2CH_2)_nNR_2CO(CR_1R_4)_1(CH_2)_m(CR_1R_4)_1SZ$
- 、
- $CONR_2(CR_1R_4)_1(CH_2)_m(CR_1R_4)_1(OCH_2CH_2)_nONR_2(CR_1R_4)_1(CH_2)_m(CR_1R_4)_1SZ$

、
 -CO-モルホリノ-X $(OCH_2CH_2)_nSZ$ 、-CO-ピペラジノ-X $(OCH_2CH_2)_nSZ$ 、-CO-ピペリジノ-X $(OCH_2CH_2)_nSZ$ 、および-CO-N-メチルピペラジノ-X $(OCH_2CH_2)_nSZ$ 、(式中、ZはHまたはSRであり、Xは1~10個の炭素原子を有する線状アルキルまたは分岐状アルキルであり、RおよびR₂は同じかまたは異なり、1~10個の炭素原子を有する線状アルキル、分岐状アルキルもしくは環状アルキル、または無置換もしくは1~10個の炭素原子を有するアリールもしくは複素環であり、そしてR₂はさらにHであることができ、R₃ およびR₄ は同じかまたは異なりHもしくは1~10個の炭素原子を有する線状アルキル、分岐状アルキルもしくは環状アルキル、またはアリールであり、lは0または1~10の整数であり、mは1~10の整数であり、nは2~1000である。)である。

【請求項 29】

細胞結合剤が抗体または抗体フラグメントである、請求項 22 に記載の細胞毒性剤。

【請求項 30】

細胞結合剤が、抗体、単鎖抗体または抗体もしくは単鎖抗体の結合性フラグメントである、請求項 22 に記載の細胞毒性剤。

【請求項 31】

細胞結合剤が、モノクローナル抗体、単鎖モノクローナル抗体または単鎖モノクローナル抗体の結合性フラグメント、ヒト化したもしくは再表面処理したまたはそうしていないモノクローナル抗体またはキメラである、請求項 22 に記載の細胞毒性剤。

【請求項 32】

細胞結合剤がCD33抗原に特異的に結合する、請求項 31 に記載の細胞毒性剤。

【請求項 33】

細胞結合剤がCD56抗原に特異的に結合する、請求項 31 に記載の細胞毒性剤。

【請求項 34】

細胞結合剤がインターフェロン、リンホカイン、ホルモン、ビタミン、成長因子、コロニー刺激因子、またはトランシフェリンである、請求項 22 に記載の細胞毒性剤。

【請求項 35】

細胞結合剤が、上皮成長因子、形質転換成長因子、血管内皮成長因子、繊維芽細胞成長因子、インシュリン様成長因子1および2、血小板由来成長因子、メラニン細胞刺激ホルモン、甲状腺刺激ホルモン、ソマトスタチン、エストロゲン、エストロゲン類似体、アンドロゲン、アンドロゲン類似体、または葉酸である、請求項 22 に記載の細胞毒性剤。

【請求項 36】

(A) 少なくとも一つのタキサンのC-7位またはC-10位においてポリエチレングリコールにより細胞結合剤に連結された一種以上のタキサンを含む有効量の細胞毒性剤、および

(B) 薬学的に許容できるキャリアー、希釈剤、または賦形剤を含む治療用組成物。

【請求項 37】

ポリエチレングリコール含有連結基が連結成分としてチオールまたはジスルフィドを含む、請求項 36 に記載の治療用組成物。

【請求項 38】

ポリエチレングリコール含有連結基が、線状の基、分岐した基、芳香族基または複素環基である側鎖上にある、請求項 36 に記載の治療用組成物。

【請求項 39】

少なくとも一つのタキサンが、開裂可能な連結基により細胞結合基に連結されている、請求項 36 に記載の治療用組成物。 10

【請求項 40】

開裂可能な基が、酸不安定性、光不安定性、ペプチダーゼ不安定性またはエステラーゼ不安定性である、請求項 39 に記載の治療用組成物。

【請求項 41】

少なくとも一つのタキサンが、開裂可能でない連結基により細胞結合基に連結されている、請求項 36 に記載の治療用組成物。

【請求項 42】

ポリエチレングリコール含有連結基を含む置換基が下記の基からなる群から選択される請求項 36 に記載の治療用組成物。すなわち、 20

- $(CR_1R_2)_1(CH_2)_n(CR_1R_2)_1(OCH_2CH_2)_nO(CR_1R_2)_1(CH_2)_m(CR_1R_2)_1SZ$,
- $CO(CR_1R_2)_1(CH_2)_n(CR_1R_2)_1(OCH_2CH_2)_nO(CR_1R_2)_1(CH_2)_m(CR_1R_2)_1SZ$,
- $CONR_2(CR_1R_2)_1(CH_2)_n(CR_1R_2)_1(OCH_2CH_2)_nO(CR_1R_2)_1(CH_2)_m(CR_1R_2)_1SZ$,
- $(CR_1R_2)_1(CH_2)_n(CR_1R_2)_1(OCH_2CH_2)_nOCO(CR_1R_2)_1(CH_2)_m(CR_1R_2)_1SZ$,
- $(CR_1R_2)_1(CH_2)_n(CR_1R_2)_1(OCH_2CH_2)_nNR_2CO(CR_1R_2)_1(CH_2)_m(CR_1R_2)_1SZ$,
- $(CR_1R_2)_1(CH_2)_n(CR_1R_2)_1(OCH_2CH_2)_nOCONR_2(CR_1R_2)_1(CH_2)_m(CR_1R_2)_1SZ$,
- $CO(CR_1R_2)_1(CH_2)_n(CR_1R_2)_1(OCH_2CH_2)_nOCO(CR_1R_2)_1(CH_2)_m(CR_1R_2)_1SZ$,
- $CO(CR_1R_2)_1(CH_2)_n(CR_1R_2)_1(OCH_2CH_2)_nNR_2CO(CR_1R_2)_1(CH_2)_m(CR_1R_2)_1SZ$,
- $CO(CR_1R_2)_1(CH_2)_n(CR_1R_2)_1(OCH_2CH_2)_nOCONR_2(CR_1R_2)_1(CH_2)_m(CR_1R_2)_1SZ$,
- $CONR_2(CR_1R_2)_1(CH_2)_n(CR_1R_2)_1(OCH_2CH_2)_nOCO(CR_1R_2)_1(CH_2)_m(CR_1R_2)_1SZ$, 30
- $CONR_2(CR_1R_2)_1(CH_2)_n(CR_1R_2)_1(OCH_2CH_2)_nNR_2CO(CR_1R_2)_1(CH_2)_m(CR_1R_2)_1SZ$

- $CONR_2(CR_1R_2)_1(CH_2)_n(CR_1R_2)_1(OCH_2CH_2)_nOCONR_2(CR_1R_2)_1(CH_2)_m(CR_1R_2)_1SZ$ 、
 -CO-モルホリノ-X $(OCH_2CH_2)_nSZ$ 、-CO-ピペラジノ-X $(OCH_2CH_2)_nSZ$ 、-CO-ピペリジノ-X $(OCH_2CH_2)_nSZ$ 、および-CO-N-メチルピペラジノ-X $(OCH_2CH_2)_nSZ$ (式中、ZはHまたはSRであり、Xは1~10個の炭素原子を有する線状アルキルまたは分岐状アルキルであり、Rおよび R_2 は同じかまたは異なり、1~10個の炭素原子を有する線状アルキル、分岐状アルキルもしくは環状アルキル、または無置換もしくは1~10個の炭素原子を有するアリールもしくは複素環であり、そして R_2 はさらにHであることができ、 R_1 および R_4 は同じかまたは異なりHもしくは1~10個の炭素原子を有する線状アルキル、分岐状アルキルもしくは環状アルキル、またはアリールであり、lは0または1~10の整数であり、mは1~10の整数であり、nは2~1000である。)である。 40

【請求項 43】

細胞結合剤が抗体または抗体フラグメントである、請求項 36 または 37 に記載の治療用組成物。

【請求項 44】

細胞結合剤が抗体、単鎖抗体または抗体もしくは単鎖抗体の結合性フラグメントである、請求項 36、37、38 または 42 に記載の治療用組成物。

【請求項 45】

細胞結合剤が、モノクローナル抗体、単鎖モノクローナル抗体または単鎖モノクローナル抗体の結合性フラグメント、ヒト化したもしくは再表面処理したまたはそうでないモノクローナル抗体またはキメラである、請求項 36、37、38 または 42 に記載の治療用組成物。

【請求項 46】

細胞結合剤が CD33 抗原に特異的に結合する、請求項 45 に記載の治療用組成物。

【請求項 47】

細胞結合剤が CD19 抗原に特異的に結合する、請求項 45 に記載の治療用組成物。

【請求項 48】

細胞結合剤がインターフェロン、リンホカイン、ホルモン、ビタミン、成長因子、コロニー刺激因子、またはトランスフェリンである、請求項 36、37、38 または 42 に記載の治療用組成物。

【請求項 49】

細胞結合剤が、上皮成長因子、形質転換成長因子、血管内皮成長因子、繊維芽細胞成長因子、インシュリン様成長因子 1 および 2、血小板由来成長因子、メラニン細胞刺激ホルモン、甲状腺刺激ホルモン、ソマトスタチン、エストロゲン、エストロゲン類似体、アンドロゲン、アンドロゲン類似体、または葉酸である、請求項 36、37、38 または 42 に記載の治療用組成物。

【請求項 50】

請求項 22～35 のいずれかに記載の細胞毒性剤の細胞毒性量に標的細胞を含有する標的細胞または組織を接触させる選択された細胞集団を死滅させる方法。

【発明の詳細な説明】

【発明の詳細な説明】

【0001】

発明の分野

本発明は増強された水溶解性を有する新規な細胞毒性剤およびその治療用途に関する。さらに詳細には、本発明は水溶解性を増強するポリエチレングリコール成分と細胞結合剤に化学連結する手段との双方を含むタキサンである新規な細胞毒性剤に関する。これらのタキサンは、細胞結合剤に化学的に連結され、標的に向けたやり方で特定細胞集団に送達される治療剤を提供する。

【0002】

発明の背景

モノクローナル抗体-薬物複合体を用いる腫瘍細胞の標的化に向けられた多くの報告が出されている (Sela et al, in *Immunoconjugates*, pp. 189-216 (C. Vogel, ed. 1987); Ghose et al, in *Targeted Drugs*, pp. 1-22 (E. Goldberg, ed. 1983); Diener et al, in *Antibody Mediated Delivery Systems*, pp. 1-23 (J. Rodwell, ed. 1988); Pietersz et al, in *Antibody Mediated Delivery Systems*, pp. 25-53 (J. Rodwell, ed. 1988); Bumol et al, in *Antibody Mediated Delivery Systems*, pp. 55-79 (J. Rodwell, ed. 1988), G.A. Pietersz and K.Krauer, 2 *J. Drug Targeting*, 183-215 (1994), R.V.J. Chari, 31 *Adv. Drug Delivery Revs.*, 89-104 (1998), W.A. Blattler and R.V.J. Chari, in *Anticancer Agents, Frontiers in Cancer Chemotherapy*, 317-338, ACS Symposium Series 796, I. Ojima et al eds, American Chemical Society 2001)。メトトレキサート、ダウノルビシン、ドキソルビシン、ビンクリスチン、ビンブラスチン、メルファラン、マイトマイシンC、クロラムブシル、カリチエアミシンおよびメイタンシノイドのような細胞毒性薬物が種々のネズミモノクローナル抗体に複合化された。一定の場合に、薬物分子が、血清アルブミン (Garnett et al, 46 *Cancer Res.* 2407-2412 (1986); Ohkawa et al, 23 *Cancer Immunol. Immunother.* 81-86 (1986); Endo et al, 47 *Cancer Res.* 1076-1080 (1980)、デキストラン (Hurwitz et al, 2 *Appl. Biochem.* 25-35 (1980); Manabi et al, 34 *Biochem. Pharmacol.* 289-291 (1985); Dillman et al, 46 *Cancer Res.* 4886-4891 (1986); Shoval et al, 85 *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 8276-8280 (1988

)), またはポリグルタミン酸(Tsukada et al, 73 J. Natl. Canc. Inst. 721-729 (1984); Kato et al, 27 J. Med. Chem. 1602-1607 (1984); Tsukada et al, 52 Br. J. Cancer 111-116 (1985))のような中間キャリアー分子を介して抗体分子に連結された。

【0003】

広範囲の連結基が、現在、開裂可能な連結基および開裂できない連結基を含めて、前記のような免疫複合体の製造のために入手できる。しかし、インビトロ細胞毒性試験により、抗体-薬物複合体が遊離の非複合薬物と同じ細胞毒性性能を稀にしか達成しないことが明らかとなった。これは、複合化した抗体から薬物分子が遊離するメカニズムが全く役に立たないことを示唆する。免疫毒性複合体の分野の初期の研究は、モノクローナル抗体と触媒として活性なプロテイントキシンとのあいだのジスルフィド橋を介して形成される複合体がその他の連結基を含む複合体よりもより細胞毒性が強かったことを示す。Lambert et al, 260 J. Biol. Chem. 12035-12041 (1985); Lambert et al, in Immunotoxins 175-209 (A. Frankel, ed. 1988); Ghetie et al, 48 Cancer Res. 2610-2617 (1988)を参照。この改良された細胞毒性は、抗体分子とトキシンの間のジスルフィド結合の効率的な開裂に寄与する、減少したグルタチオンの細胞内高濃度にあると考えられた。メイタンシノイドおよびカリチエアミシンが、ジスルフィド結合を介してモノクローナル抗体に連結された高細胞毒性薬物の最初の例である。これらの薬物の抗体複合体は、インビトロで高い能力を有することが示され、マウスにおけるヒト腫瘍異種移植片モデルにおいて非常に優れた抗腫瘍活性を示した(R.V.J. Chari et al, 52 Cancer Res., 127-131 (1992), C. Liu et al., 93, Proc. Natl. Acad. Sci., 8618-8623 (1996), L.M. Hirman et al., 53, Cancer Res., 3536-3542 (1993), P.R. Hamann et al, 13, BioConjugate Chem., 40-46 (2002))。

【0004】

ジスルフィド連結抗体-薬物複合体の欠点の一つの理由は、ジスルフィド橋を介して抗体に薬物を連結するのに容易に使用できる硫黄原子含有部分を有する細胞毒性薬物の入手の難しさにある。さらに、既存の薬物の細胞毒性能力を減じることなくそれらを化学変性することが困難である。

【0005】

上述の困難性にかかわらず、細胞結合成分とメイタンシノイドとして知られている細胞毒性薬物群とを含む有用な細胞毒性剤が報告されている(米国特許第5,208,020号、米国特許第5,416,064号およびR.V.J. Chari, 31 Advanced Drug Delivery Reviews 89-104 (1998))。同様に、細胞結合成分ならびに有能な抗腫瘍抗生物質CC-1065の類似体および誘導体を含む有用な細胞毒性剤も報告されている(米国特許第5,475,092号および米国特許第5,585,499号)。

【0006】

パクリタクセル(Taxol:登録商標)(天然細胞毒性製品)、およびドセタクセル(Taxotere:登録商標)(半合成誘導体)(図1参照)が癌の治療に広く使用されている。これらの化合物はタキサンと呼ばれる化合物族に属する。タキサンは、微小管集合体率の増加および細胞死をもたらす、チューブリンの解重合を抑制する紡錘体毒である。ドセタクセルおよびパクリタクセルは癌の治療に有用な薬剤であるが、正常細胞に対するそれらの非特異毒性の理由でそれらの抗腫瘍活性が制限される。

【0007】

さらに、パクリタクセルやドセタクセルのような化合物自身は、細胞結合剤の複合に使用されるのに足る能力がない。最近、ドセタクセルやパクリタクセルのいずれよりも大きな能力を持つ二、三の新規なタキサンが調製された(図1)。加えて、これらのタキサンは、開裂可能な結合を介して細胞結合剤に連結できる適切な官能性を有する(米国特許第6,340,701号および米国特許第6,372,738号)。しかし、これらのタキサンは水に対する溶解性が低い。したがって、細胞結合剤(これらは典型的には水にのみ溶解性である)に対する連結は、細胞結合剤の損傷をもたらし得る有機共溶媒の高比率の使用を必要とする。したがって、細胞結合剤との複合反応は、現在、極度に希釈した水溶液中で行わなければな

らない。

【0008】

パクリタセルのような溶解性の低い薬物の水溶解性を増強させるのに一般的に使用される一アプローチは、しばしばPEG化(PEGylation)と呼ばれる方法において、鎖の長さを変化させるポリエチレングリコールスパーサーを組み入れることにより、前記のような薬物をプロドラッグに変換することである。これらのプロドラッグはインビトロで不活性かまたは非常に活性が低く、活性化させるためにインビボでのポリエチレングリコール基の酵素的開裂に依存しなければならない。このようなインビボでの開裂メカニズムは、活性薬物への低い変換率をもたらす効率的でない。加えて、PEG化タキサンは細胞結合剤に複合できる連結基を有しない(米国特許第5,614,549号;第5,648,506号;第5,880,131号;第5,824,701号; R.B. Greenwald et al., 60, J. Org. Chem., 331-336 (1995), R.B. Greenwald et al., 39, J. Med. Chem., 424-431 (1996), A.E. Matthew et al., 35, J. Med. Chem., 145-151 (1992))。 10

【0009】

したがって、インビボで追加の活性化の必要性がなく、細胞毒性能力を保存しながら、水溶解性を増強させるポリエチレングリコール成分を含有するタキサンを提供する方法が必要である。これらのPEG化は、細胞結合剤と連結できる連結基を有する必要もある。したがって、細胞毒性について妥協することなくタキサンの副作用が軽減されるこれらのタキサンの使用方法が非常に求められている。 20

【0010】

発明の概要

本発明の一目的は、水溶解性の増強した、ポリエチレングリコール成分を組み入れる新規なタキサンを提供することである。

【0011】

本発明の別の目的は、インビトロで高い細胞毒性を示し、多くの疾病の治療に依然として有効に使用され得るポリエチレングリコール含有タキサンを提供することである。

これらおよびその他の目的は、C-7位またはC-10位にポリエチレングリコール含有連結基を含むタキサンを与えることにより達成され、当該連結基はタキサンを細胞結合剤またはその他の化学成分に連結できる。

【0012】

本発明は、タキサンの少なくとも一つのC位-7またはC-10位にポリエチレングリコール含有連結基により細胞結合剤に連結された一種以上のタキサンを含む細胞毒性剤も提供する。 30

【0013】

本発明は、タキサンの少なくとも一つのC-7位またはC-10位にポリエチレングリコール含有連結基により細胞結合剤に連結された一種以上のタキサンを含む細胞毒性剤の有効量と、(B)薬学的に許容できるキャリアー、希釈剤もしくは賦形剤とを含む治療用組成物も提供する。

【0014】

本発明は、標的細胞または標的細胞を含有する組織に細胞毒性量の上述の細胞毒性剤を接触させることを含む選択した細胞集団を殺す方法も提供する。 40

図面の簡単な記述

図1は、米国特許第6,340,701号および第6,372,738号に記載されている、より能力のあるタキサンの幾つかを含む、種々のタキサンの構造を表す化学式である。

【0015】

図2は、本発明のポリエチレングリコール含有タキサンの幾つかをの構造を表す化学式である。

図3は、本発明のタキサンを調製するための出発物質である10-デアセチルパカチンIIIの構造および親タキソイドの構造を示す。

【0016】

図4～8は、本発明のポリエチレングリコール含有タキサン[®]の調製のための合成スキームを示す。

図9、10および11は、本発明のポリエチレングリコール含有タキサン[®]のインビトロ細胞毒性を示す。

【0017】

本発明の詳細な記述

本発明は、高細胞毒性を残留させ細胞結合剤に有効に連結できる新規なタキサンの合成に基づく。以前は、ジスルフィド結合のような開裂可能な連結を使用する抗体に対する高細胞毒性薬物の連結が、細胞内部に十分に活性な薬物を放出するのを確実にし、そしてこのような複合体が抗原特異的に細胞毒性であることが示されていた(R.V.J. Chari et al, 10 52 Cancer Res. 127-131 (1992); 米国特許第5,475,092号;ならびに米国特許第5,416,064号,第6,340,701号および第6,372,738号)。しかし、薬物の細胞毒性能力を除くことなくそれらの水溶解性を改良するために当該薬物を変性するのはきわめて困難であることが技術水準は明らかにしている。開示されている発明は、化学成分、特に、適切な細胞結合剤を連結できるポリエチレングリコールを含有するもので開示されているタキサンを変性することによりこの問題を克服する。結果として、開示されている新規なタキサンは、公知のタキサンよりも水溶解性とより高い細胞毒性能力を有する。細胞結合剤-タキサン複合体は、望まれている細胞のみに対して標的に向けて適用されるタキサンの細胞毒性作用に十分な量を可能にし、したがって、標的としていない健康な細胞に対する損傷となる副作用を避けうる。本発明は、以前困難であった水性媒体中で細胞結合剤にタキサンを連結 20 するのを容易にする。したがって、本発明は、可及的に少ない副作用を示しながら、腫瘍細胞(特に固形腫瘍細胞)、ウイルス感染細胞、微生物感染細胞、寄生虫感染細胞、自己免疫細胞(自己抗体を産生する細胞)、活性化細胞(移植拒絶または移植片対宿主疾患に関連するもの)、またはその他のあらゆる疾病細胞もしくは異常細胞のような、殺す、溶解するもしくは破壊しようとする疾病細胞または異常細胞を除去するために有用な薬剤を提供する。

【0018】

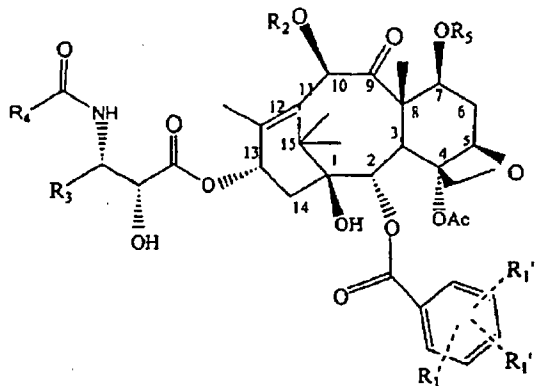
本発明の細胞毒性剤は、連結基により細胞結合剤に連結された一つ以上のポリエチレングリコール含有タキサンを含む。連結基は、慣用方法によりタキサンに共有結合される化学成分の一部である。好適な実施態様では、化学成分はジスルフィド連結によりタキサン 30 に共有結合されることができる。

【0019】

本発明で有用なタキサンは、下記に示す式(I)：

【0020】

【化1】



(I)

【0021】

を有することができる。

本発明の新規なタキサンは二種の実施態様、連結基を有するPEG置換基の位置に基づく(1)および(2)に分けることができる。図2に二種の実施態様の例を示す。

【0022】

双方の実施態様では、 R_1 はH、電子吸引基、例えば、F、 NO_2 、CN、Cl、 CHF_2 、もしくは CF_3 または電子供与基、例えば、 $-\text{OCR}_3$ 、 $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{NR}_6\text{R}_7$ 、もしくは $-\text{OR}_8$ であることができ、そして R_1' および R_1'' は同じかまたは異なり、H、電子吸引基、または電子供与基であることができる。

【0023】

R_6 および R_7 は同じかまたは異なり、各々、H、1～10個の炭素原子を有する線状、分岐状または環状アルキル基であることができ、あるいは無置換アリールもしくは1～10個の炭素原子を有する置換アリールであることができる。 R_8 は1～10個の炭素原子を有する線状、分岐状または環状アルキル基であることができる。

【0024】

好ましくは、 R_6 および R_7 は各々、Hまたは1～4個の炭素原子を有するアルキル基もしくはアリール基である。好適な $-\text{NR}_6\text{R}_7$ 基の例には、ジメチルアミノ、ジエチルアミノ、ジプロピルアミノ、およびジブチルアミノ等があり、ここで、ブチル成分は一級、二級、三級またはイソブチルのいずれかである。 R_1 は、好ましくは、OMe、OEt、Cl、F、 NO_2 、または CF_3 である。

【0025】

双方の実施態様では、 R_3 はアリールまたは1～10個の炭素原子を有する線状、分岐状もしくは環状アルキルであることができ、好ましくは、 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$ または $-\text{C}_6\text{H}_5$ である。

【0026】

実施態様(1)では、 R_2 がPEG-含有連結基であり、 R_5 がH、1～10個の炭素原子を有する複素環式、線状、分岐状もしくは環状エステルまたはエーテルであるか、または式 $-\text{C}(\text{NR}_1)_2\text{R}_{11}$ のカルバメート(式中、 R_1 および R_{11} はH、1～10個の炭素原子を有する線状、分岐状、もしくは環状アルキルまたは無置換もしくは置換アリールであることができる。)であることができる。エステルについて、好適な例には、 $-\text{COCH}_3$ 、 $-\text{COCH}_2\text{CH}_3$ および $-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ 等がある。カルバメートについて、好適な例には、 $-\text{CONHCH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{CONHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{CO}-$ モルホリノ、 $-\text{CO}-$ ピペラジノ、 $-\text{CO}-$ ピペリジノ、または $-\text{CO}-\text{N}-$ メチルピペラジノ等がある。

【0027】

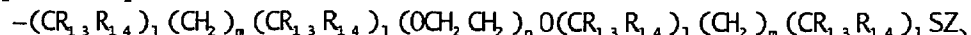
実施態様(2)では、 R_2 がPEG-含有連結基であり、 R_2 がHまたは実施態様(1)の R_3 について上の定義と同じであることができる。

適切な連結基は当業界で周知であり、それには、ジスルフィド基、チオエーテル基、酸不安定性基、光不安定性基、ペプチダーゼ不安定性基およびエステラーゼ不安定性基等がある。好適なものはジスルフィド基およびチオエーテル基である。

【0028】

連結基がチオールまたはジスルフィド含有基であるとき、チオールやジスルフィド基を有する側鎖は線状もしくは分岐状、芳香族もしくは複素環式であることができる。タキサンは、タキサン上のヒドロキシル基を介してポリエチレングリコールに連結される。ヒドロキシル基を使用して、例えば、エーテル、エステル、またはカルバメートを形成し、ポリエチレングリコールの末端に連結する。チオールまたはジスルフィド基を含有する成分は、ポリエチレングリコールのその他の末端に連結される。この連結成分は、例えば、エーテル、エステル、アミドまたはカルバメートを含有し得る。当業者は適当な側鎖を容易に決定できる。チオールまたはジスルフィド含有側鎖の具体的な例には下記のもの等がある。

【0029】



$-\text{CO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{O}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$,
 $-\text{CONR}_{12}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{O}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$,
 $-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OCO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$,
 $-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{NR}_{12}\text{CO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$,
 $-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OCONR}_{12}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$,
 $-\text{CO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OCO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$,
 $-\text{CO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{NR}_{12}\text{CO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$,
 $-\text{CO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OCONR}_{12}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$,
 $-\text{CONR}_{12}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OCO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$,
 $-\text{CONR}_{12}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{NR}_{12}\text{CO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$ 10

$-\text{CONR}_{12}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OCONR}_{12}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$

$-\text{CO}-$ モルホリノ- $\text{X}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{SZ}$ 、 $-\text{CO}-$ ピペラジノ- $\text{X}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{SZ}$ 、 $-\text{CO}-$ ピペリジノ- $\text{X}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{SZ}$ 、および $-\text{CO}-\text{N}-$ メチルピペラジノ- $\text{X}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{SZ}$ (式中、ZはHまたはSRであり、Xは1~10個の炭素原子を有する線状アルキルまたは分岐状アルキルであり、Rおよび R_{12} は同じかまたは異なり、1~10個の炭素原子を有する線状アルキル、分岐状アルキルもしくは環状アルキル、または無置換もしくは置換アリールもしくは複素環であり、そして R_{12} はさらにHであることができ、 R_{13} および R_{14} は同じかまたは異なり、Hもしくは1~10個の炭素原子を有する線状アルキル、分岐状アルキルもしくは環状アルキル、または無置換または置換アリールであり、lは0または1~10の整数であり、mは1~10の整数であり、nは2~1000である。)である。 20

【0030】

線状アルキルの例には、メチル、エチル、プロピル、ブチル、ペンチルおよびヘキシル等がある。

分岐状アルキルの例には、イソプロピル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、イソペンチル、および1-エチル-プロピル等がある。

【0031】

環状アルキルの例には、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチルおよびシクロヘキシル等がある。 30

無置換アリール(simple aryl)の例には、フェニルおよびナフチル等がある。

【0032】

置換アリールの例には、アルキル基で、Cl、Br、Fのようなハロゲン、ニトロ基、アミノ基、スルホン酸基、カルボン酸基、ヒドロキシ基またはアルコキシ基で置換された上述のもののようなアリール等がある。

【0033】

複素環の例は、ヘテロ原子がO、N、およびSから選択される化合物であり、それらにはモルホリノ、ピペリジノ、ピペラジノ、N-メチルピペラジノ、ピローリル、ピリジル、フリルおよびチオフエン等がある。

【0034】

本発明のタキサンは、PEG-含有チオール-もしくはジスルフィド-含有置換基を有し、それら自身新規である。 40

PEG-含有チオール-もしくはジスルフィド-含有置換基を有するタキサンは、公知の方法にしたがって合成することができる。合成のための出発物質は、図3に示されている市販されている10-デアセチルバカチンIIIである。種々の置換基を導入する化学は幾つかの刊行物に記載されている(Ojima et al., J. Med. Chem. 39, 3889-3896, (1996), Ojima et al., 40 J. Med. Chem. 267-278 (1997); I. Ojima et al., 96 Proc. Natl. Acad. Sci., 4256-4261 (1999); I. Ojima et al., 米国特許第5,475,011号および米国特許第5,811,452号)。

【0035】

フェニル環上の置換基 R_1 および置換基 R_2 の位置は、所望の毒性の化合物が得られるまで変動できる。さらに、フェニル環上の置換の程度は所望の毒性を達成するために変動できる。すなわち、フェニル環は1またはそれ以上の置換基（例えば、フェニル環のモノ、ジまたはトリ置換）を有することができ、所望の毒性を達成するための別の手段を提供する。高細胞毒性は、薬物に72時間露出したときの培養癌細胞を用いてインビトロで測定したとき、 $1 \times 10^{-12} \sim 3 \times 10^{-9}$ Mの範囲の IC_{50} の毒性を示すと定義される。当業者は、通常行う実験を使用するのみで R_1 の適切な化学成分および R_2 の適切な位置を決定できる。

【0036】

例えば、メタ位の電子供与基が細胞毒性能力を向上させることが期待されるが、パラ位の置換基は親タキサンと比較してその能力を向上させることが期待されない。典型的には、異なる位置(オルト、メタおよびパラ)の置換基を持つ、二、三の代表的なタキサンが最初調製され、インビトロ細胞毒性について評価される。

【0037】

ジスルフィドまたはチオール含有置換基は、タキサン骨格中のヒドロキシル置換基の一つの反応により導入されるPEG基に組み入れることができる。所望の一つと反応している間、種々のヒドロキシル基を保護する化学は前述した(例えば、上で引用した参考文献を参照)。置換基は、遊離ヒドロキシル基をPEG-含有エーテル、PEG-含有エステル、またはPEG-含有カルバメートに単に変換することにより導入される。この変換を次のようにして達成する。所望のヒドロキシル基を、市販試薬のリチウムヘキサメチルジシラザン(40℃のテトラヒドロフラン中)(1.2当量)で処理することにより脱プロトン化する(上掲Ojima et al)。次いで、得られるアルコキシドアニオンを、適切に保護されたチオール置換基を有するハロゲン化PEGで反応させ、次いで、チオール基の脱保護をし、所望のチオール含有PEG化タキサンを提供する。チオール基を、メチルメタンチオスルホネートまたはジチオピリジンと各々反応させることによりメチルまたはピリジルジスルフィドに変換できる。この方法は、米国特許第5,416,064号に記載されている。

【0038】

あるいは、所望のヒドロキシル基を、ジ-イソプロピルカルボジイミド(DIC)のようなカップリング剤の存在下で、ジスルフィド含有置換基を有するカルボキシ-PEGと反応させることにより直接エステル化し、ジスルフィド含有PEG化タキサンエステルを与えることができる。次いで、ジスルフィド置換基の還元によりチオール含有PEG化タキサンエステルを与えることができる。ジスルフィド含有カルバメートを調製するために、ヒドロキシル基を、パラ-ニトロフェニルクロロホルメートのような市販クロロホルメートと反応させ、次いで、ジスルフィド含有置換基を有するアミノ-PEGと反応させることができる。図4～8に代表的な合成スキームを示し、実施例2にその方法を記載する。

【0039】

本発明のジスルフィド含有およびチオール含有PEG化タキサン薬物を、インビトロで種々の望まれていない細胞系の増殖抑制能力について評価できる。例えば、ヒト肺癌系A549、ヒト乳腫瘍系MCF-7、およびBurkitt'sリンパ腫系Namalwaのような細胞系をこれらの化合物の評価のために容易に使用できる。評価しようとする細胞を薬物に72時間露出し、細胞の生存フラクションを公知の方法による直接分析で測定できる。次いで、 IC_{50} 値を分析の結果から算出できる。本発明のPEG化タキソイドの試験結果を図9、10および11に示す。PEG化タキソイド17は、MCF-7細胞に対して IC_{50} 値が 6.3×10^{-11} Mであり、極めて有能である。PEG化タキソイド17は、A-431細胞に対して対応する非-PEG化親タキソイド1同等の高いインビトロ能力を有することが示されている(双方のタキソイド $IC_{50} = 3.3 \times 10^{-10}$ M)。PEG化タキソイド20も高い能力を示し、MCF-7細胞に対し、 IC_{50} 値が 3.2×10^{-10} Mである。

【0040】

治療剤として本発明の化合物の有効性は適切な細胞結合剤の選択に依存する。細胞結合剤は、現在知られている、あるいは知られることとなるいずれの種類のものでもよく、そ

れにはペプチドおよび非ペプチドがある。細胞結合剤は、特異的または非特異的に細胞を結合できるいずれかの化合物であることができる。一般に、これらは抗体、またはそのフラグメント（特に、モノクローナル抗体）、リンホカイン、ホルモン、成長因子、ビタミン、栄養-輸送分子（例えば、トランスフェリン）、あるいはその他の細胞結合性分子もしくは物質のいずれかであることができる。

【0041】

使用できる細胞結合剤のより具体的な例には、再表面処理抗体（米国特許第5,639,641号）、ヒト化もしくは完全ヒト抗体；単鎖抗体（Oi, V.T. & Morrison, S. 4 *Bio Techniques*, 214-221 (1986), Raag, R & Whitlow, M. 9 *EASER J.* 73-80 (1995), Reiter, Y. et al. 14 *Nature Biotechnol.* 1239-12145 (1996))；キメラ抗体（米国特許第4,816,567号）；sFv、Fab、Fab'、およびF(ab')₂のような抗体のフラグメント（Parham, 131 *J. Immunol.* 2895-2902 (1983)；Spring et al, 113 *J. Immunol.* 470-478 (1974) Nisonoff et al, 89 *Arch. Biochem. Biophys.* 230-244 (1960))；インターフェロン（例えば、 α 、 β 、 γ ）；IL-2、IL-3、IL-4、IL-6のようなリンホカイン；インシュリン、TRH (thyrotropin releasing hormones：甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン)、MSH (melanocyte-stimulating hormone：黒色素細胞刺激ホルモン)、ステロイドホルモン（例えば、アンドロゲンやエストロゲン）のようなホルモン；葉酸のようなビタミン；EGF、TGF- α 、VEGF、PDGF、FGF、IGF-1、IGF-2、ソマトスタチン、G-CSF、M-CSFおよびGM-CSFのような成長因子およびコロニー刺激因子（Burgess, 5 *Immunology Today* 155-158 (1984))；およびトランスフェリン（O'Keefe et al, 260 *J. Biol. Chem.* 932-937 (1985))等がある。

【0042】

モノクローナル抗体技術により、特異的モノクローナル抗体またはそのフラグメントの形態の非常に特異的な細胞結合剤の産生が可能となる。特に、当業界で周知なのはモノクローナル抗体、またはそのフラグメントを創作するための技術であり、それは、無傷標的細胞のような関心のある抗原、標的細胞、全ウイルス、弱毒化全ウイルス、から単離される抗原、およびウイルスコートプロテインのようなウイルスプロテインでマウス、ラット、ハムスター、またはその他のいずれかのほ乳類を免疫化させることにより行う。感作ヒト細胞も使用できる。モノクローナル抗体、またはその他のフラグメントの別の創作方法は、sFv（単鎖変動領域）、特にヒトsFvのファージライブラリーの使用である（例えば、Griffiths et al., 米国特許第5,885,793号；McCafferty et al., WO 92/01047；Liming et al., WO 99/06587参照）。

【0043】

適切な細胞結合剤の選択は標的とする特定の細胞集団に依存する選択事項であるが、一般に、適切なものが入手できる場合にはモノクローナル抗体が好適である。

例えば、モノクローナル抗体MY9は、CD33抗原に特異的に結合し（J.D. Griffin et al 8 *Leukemia Res.*, 521 (1984)）しかも標的細胞が急性骨髄性白血病(AML)におけるようなCD33を発現する場合に使用できるネズミIgG₁抗体である。同様に、モノクローナル抗体抗-B4はネズミIgG₁であり、それはB細胞上でCD19抗原に結合しする（Nadler et al, 131 *J. Immunol.* 244-250 (1983)）、標的細胞がB細胞または、非-Hodgkinリンパ腫や慢性リンパ母細胞白血病のようなこの抗原を発現する病気細胞である場合に使用できる。同様に、抗体N901は、小細胞肺癌細胞におよび神経内分泌原因のその他の腫瘍細胞に見出されるCD56に結合するネズミモノクローナルIgG₁抗体（Roy et al. *J. Nat. Cancer Inst.* 88:1136-1145 (1996)）。

【0044】

さらに、骨髄細胞に結合するGM-CSFを、急性骨髄性白血病からの病気細胞に対する細胞結合剤として使用できる。活性化T細胞に結合するIL-2は、移植片拒絶の防止のため、移植片対宿主疾患の治療および防止のため、そして急性T細胞白血病の治療のために使用できる。メラニン細胞に結合するMSHはメラノーマの治療のために使用できる。卵巣およびその他の癌上に発現する葉酸レセプターを標的とする葉酸も適切な細胞結合剤である。

【0045】

乳および精巢の癌を、細胞結合剤としてそれぞれエストロゲン（もしくはエストロゲン類似体）またはアンドロゲン（もしくはアンドロゲン類似体）を用いて成功裡に標的化できる。

【0046】

本発明のPEG化タキサンと細胞結合剤との複合体は、現在知られているあるいは後に開発されるいずれかの技術を使用して形成できる。米国特許第5,416,064号および米国特許第5,475,092号に多くの複合方法が教示されている。PEG化タキサンエステルを変性でき、遊離アミノ基を得、酸不安定連結基または光不安定性連結基を介して抗体またはその他の細胞結合剤に連結させることができる。PEG化タキサンエステルをペプチドで濃縮し、次いで細胞結合剤に連結し、ペプチダーゼ不安定性連結基を得ることができる。PEG化タキサンエステル上のヒドロキシル基をサクシニル化させ、細胞結合剤に連結して薬物を遊離する細胞内エステラーゼにより開裂し得る複合体を生成できる。最も好ましくは、PEG化タキサンエーテル、エステル、またはカルバメートを処理して遊離もしくは保護したチオール基を作り、次いで、ジスルフィドまたはチオール含有タキサンを、ジスルフィド結合を介して細胞結合剤に連結する。

【0047】

本発明の代表的な複合体は、抗体-PEG化-タキサン、抗体フラグメント-PEG化-タキサン、上皮成長因子(EGF)-PEG化-タキサン、(TGF- α)-PEG化-タキサン、(FGF)-PEG化-タキサン、(PDGF)-PEG化-タキサン、メラニン細胞刺激ホルモン(MSH)-PEG化-タキサン、(IGF-1)-PEG化-タキサン、(IGF-2)-PEG化-タキサン、(ソマトスタチン)-PEG化-タキサン、甲状腺刺激ホルモン(TSH)-PEG化-タキサン、エストロゲン-PEG化-タキサン、エストロゲン類似体-PEG化-タキサン、アンドロゲン-PEG化-タキサン、アンドロゲン類似体-PEG化-タキサン、および葉酸-PEG化-タキサンである。

【0048】

抗体、抗体フラグメント、プロテインもしくはペプチドホルモン、プロテインもしくはペプチド成長因子およびその他のプロテインのPEG化-タキサン複合体は、公知の方法により同様にして製造する。例えば、ペプチドおよび抗体を、N-サクシニミジル 3-(2-ピリジルジチオ)プロピオネート(SPDP)、N-サクシニミジル 4-(2-ピリジルジチオ)ペンタノエート(SPP)、4-サクシニミジル-オキシカルボニル- α -メチル- α -(2-ピリジルジチオ)-トルエン(SMPT)、N-サクシニミジル-3-(2-ピリジルジチオ)ブチレート(SDPB)、2-イミノチオラン、またはS-アセチルコハク酸無水物のような架橋剤を用いて公知の方法により変性できる。Carlsson et al, 173 Biochem. J. 723-737 (1978); Blattler et al, 24 Biochem. 1517-1524 (1985); Lambert et al, 22 Biochem. 3913-3920 (1983); Klotz et al, 96 Arch. Biochem. Biophys. 605 (1962);および Liu et al, 18 Biochem. 690 (1979), Blakey and Thorpe, 1 Antibody, Immunoconjugates and Radiopharmaceuticals, 1-16 (1988), Worrell et al Anti-Cancer Drug Design 179-184 (1986)参照。こうして誘導された遊離または保護されたチオール含有細胞結合剤を、次いでジスルフィドまたはチオール含有タキサンと反応させて複合体を製造する。複合体をHPLCまたはゲル濾過により精製できる。

【0049】

同様に、例えば、エストラジオールやアンドロステンジオールのようなエストロゲンおよびアンドロゲン細胞結合剤を、例えば、縮合剤としてジシクロヘキシルカルボジイミドを使用して、C-17位ヒドロキシ基において適切なジスルフィド含有カルボン酸を用いてエステル化できる。使用できる前記カルボン酸の例は、3-(2-ピリジルジチオ)プロパン酸、3-メチルジチオプロパン酸、4-(2-ピリジルジチオ)ペンタン酸、および3-フェニルジチオプロパン酸がある。C-17位ヒドロキシ基のエステル化は、3-S-アセチルプロパノイルクロリドのような適切に保護されたチオール基含有カルボン酸クロリドと反応することによっても達成できる。文献に記載されている通りのその他のエステル化方法も使用できる(Haslam, 36 Tetrahedron 2409-2433 (1980))。次いで、保護されているまたは遊離チオール含有アンドロゲンまたはエストロゲンをジスルフィドまたはチオール含有PEG化タキサ

ンと反応させて複合体を製造できる。シリカゲル上のカラムクロマトグラフィーまたはHPLCにより複合体を精製できる。葉酸を、ジシクロヘキシルカルボジイミドのような縮合剤の存在下で4-(2-ピリジルジチオ)ペンタノン酸ヒドラジドのような適当なヒドラジドで縮合し、活性ジスルフィドを含有するヒドラゾンを与えることができる。次いで、ジスルフィド含有葉酸をチオール含有タキサンと反応させて複合体を製造でき、これをシリカゲル上のカラムクロマトグラフィーまたはHPLCにより精製できる。

【0050】

好ましくは、モノクローナル抗体もしくは細胞結合剤-PEG化タキサン複合体は、上述したように、ジスルフィド結合により連結され、PEG化タキサン分子を送達できる。このような細胞結合剤複合体は、モノクローナル抗体をサクシニミジルピリジルージチオプロピオネート (SPDP) で変性することによるような公知の方法により調製される (Carlsson et al, 173 Biochem. J. 723-737 (1978))。次いで、得られたチオピリジル基を、チオール含有PEG化タキサンで処理することにより置換させ、ジスルフィド連結複合体を製造する。また、アリールジチオ-タキサンの場合、細胞結合剤の形成は、抗体分子に予め導入されていたスルフヒドリル基によるPEG化タキサンのアリールチオールの直接置換により行われる。ジスルフィド橋を介して連結される1~10個のタキサン薬物を含有する複合体がいずれかの方法により容易に調製される。

【0051】

より具体的には、1 mM EDTAを含有するpH 6.5の0.1 Mリン酸カリウムバッファー中、1 mg/ml濃度のジチオピリジル変性抗体溶液を、チオール含有PEG化タキサンで処理する(1.7モル当量/ジチオピリジル基)。変性抗体からのチオピリジンの放出を343 nmで分光光度計によりモニターすると、約20時間で完了する。抗体-タキサン複合体を、Sephadex G-25またはSephacryl S300のカラムを通すゲル濾過により、精製し、未反応薬物およびその他の低分子量物質を除く。1抗体分子当たり結合された多くのタキサン成分を、230 nmおよび275 nmにおける吸光度の比率を測定することにより決定できる。1抗体分子当たり平均1~10個のタキサン分子をこの方法でジスルフィド結合により連結できる。

【0052】

開裂できない連結をもつ抗体-PEG化タキサン複合体も調製できる。抗体を、文献に記載されている、サクシニミジル4-(マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシレート (SMCC)、スルホ-SMCC、*m*-マレイミドベンゾイル-N-ヒドロキシサクシニミドエステル (MBS)、スルホ-MBSまたはサクシニミジルーヨードアセテートのような架橋剤を用いて変性し、1~10個の反応基を導入できる。Yoshitake et al, 101 Eur. J. Biochem. 395-399 (1979); Hashida et al, J. Applied Biochem. 56-63 (1984); および Liu et al, 18 Biochem. 690-697 (1979)を参照。次いで、変性抗体をチオール含有タキサン誘導体と反応させ、複合体を形成する。複合体を、透析によるか、またはSephadex G-25もしくはSephacryl S-300カラムを通すゲル濾過により精製できる。

【0053】

変性抗体、またはそのフラグメントを、チオール含有PEG化タキサンで処理する(1.25モル当量/マレイミド基)。周囲温度で一晩混合物をインキュベートする。抗体-タキサン複合体を、透析によるか、またはSephadex G-25もしくはSephacryl S-300カラムを通すゲル濾過により精製する。典型的には、1抗体当たり1~10個のタキサンが連結される。

【0054】

好適な方法は、サクシニミジル4-(マレイミドメチル)-シクロヘキサン-1-カルボキシレート (SMCC) で、抗体、またはそのフラグメントを変性させ、マレイミド基を導入し、次いで、変性した抗体またはフラグメントとチオール含有PEG化タキサンとを反応させて、チオエーテル連結複合体を与える。この場合も、1抗体分子当たり1~10個の薬物分子をもたらす。

【0055】

Namaiwa やHL-60のような非-接着性細胞系に対するPEG化タキサンおよびそれらの抗体複合体の細胞毒性を、Goldmacher et al, 135 J. Immunol. 3648-3651 (1985)に記載さ

れているとおりの細胞増殖曲線の自動補正(back-extrapolation)により測定できる。SKBR 3やA431のような接着性細胞系に対する細胞毒性を、Goldmacher et al, 102 J. Cell Bio 1. 1312-1319 (1986)に記載されている感受性試験(clonogenic assays)により決定できる。

【0056】

本発明は、治療用組成物も提供し、当該組成物は：

(A)タキサンの内少なくとも一つのC-7位またはC-10位にポリエチレングリコール含有連結基により細胞結合剤に連結された一種以上のタキサンを含む有効量の細胞毒性剤；および

(B)薬学的に許容できるキャリアー、希釈剤、または賦形剤を含む。

10

【0057】

同様に、本発明は、標的細胞または標的細胞を含有する組織に細胞毒性量の上述細胞毒性剤を接触させることを含む選択した細胞集団を殺す方法を提供する。

上述したようにして細胞毒性剤を調製する。

【0058】

適当な薬学的に許容できるキャリアー、希釈剤、または賦形剤は周知であり、臨床状況に応じて当業者により決定され得る。

適当なキャリアー、希釈剤、および/または賦形剤の例には、(1)約1 mg/ml~25 mg/ml ヒト血清アルブミンを含有するかまたは含有しないDulbecco's リン酸塩バッファー液(pH約7.4)、(2) 0.9%食塩水(0.9% w/v NaCl)、および(3) 5% (w/v)デキストロース等があり、トリプタミンのような抗酸化剤やTween 20のような安定化剤も含有できる。

20

【0059】

選択した細胞集団を殺す方法は、インビトロ、インビボ、またはエックスビボで行うことができる。

インビトロ用途の例には、疾患または悪性細胞を殺すために移植前に自己由来骨髄の同じ患者への処置；コンピテントT細胞を殺し、移植片対宿主疾患(GVHD)を防止するためのそれらの移植前の骨髄の処置；標的抗原を発現しない望ましい変異体を除くすべての細胞を殺すかまたは望ましくない抗原を発現する変異体を殺すために細胞培養の処置等がある。

【0060】

30

インビトロ用途の非-臨床条件は当業者により容易に決定される。

臨床エックスビボ用途の例は、癌処置もしくは自己免疫疾患の処置において自己由来移植前に骨髄から腫瘍細胞もしくはリンパ腫細胞を除去すること、またはGVHDを防止するために移植前に自己由来もしくは同種異系の骨髄もしくは組織からT細胞もしくは他のリンパ腫細胞を除去することである。処置は次のようにして行うことができる。骨髄を患者またはその他の個体から採り、次いで、濃度範囲約10 μ M~1 pMの本発明の細胞毒性剤を添加した、血清を含有する培地中で、約30分~48時間、約37℃でインキュベートした。インキュベーションの濃度および時間の正確な条件、すなわち、ドーズは、当業者により容易に決定される。インキュベーション後、骨髄細胞を血清を含有する培地で洗い、公知の方法により静脈注射で患者に戻す。患者が、骨髄採取時および処置細胞の再注入時間の破壊的化学療法や全身照射の過程のような他の処置を受ける環境では、処置した骨髄細胞は標準的な医療装置を使用して液体窒素中で冷凍させて貯蔵する。

40

【0061】

臨床インビボ用途について、本発明の細胞毒性剤は、無菌性やエンドトキシンレベルについて試験した溶液としてまたは凍結乾燥粉末として供給される。複合体投与の適切なプロトコル例は以下の通りである。複合体を、各週の静脈注射一回投与量(bolus)として、4週間、週1回与える。一回投与量は5~10 ml ヒト血清アルブミンを添加した50~100 mlの標準生理食塩水中に入れる。投与量は、静脈注射の1回投与当り10 μ g~2000 mgであり得る(100 ng~20mg/kg/日の範囲)。4週間の処置後、患者に週一回基準で継続して処置を受けさせることができる。投与経路、賦形剤、希釈剤、投与量

50

、時間等に関する具体的なプロトコールは臨床状況に応じて当業者により決定できる。

【0062】

選択した細胞集団をインビボまたはエクスビボで殺す方法にしたがって処置され得る医学症状の例には、例えば、肺ガン、乳癌、結腸癌、前立腺癌、腎臓癌、脾臓癌、卵巣癌およびリンパ系器官癌；全身性狼瘡、慢性関節リウマチ、および多発性硬化症のような自己免疫疾患；腎移植拒絶、肝移植拒絶、肺移植拒絶、心臓移植拒絶、および骨髄移植拒絶のような移植拒絶；移植片対宿主疾患；CMV感染、HIV感染、AIDS等のウイルス感染；ならびに、ジアルジア症、アメーバー症、住血吸虫症等の寄生虫感染；そして当業者により決定されるような医学症状等がある。

【0063】

10

実施例

今、本発明を非限定的実施例に言及することにより例証する。特記しない限り、総ての百分率、比率、部等は重量を基準とする。

【0064】

実施例 1

インビトロ細胞毒性分析

本発明のスルフィド、ジスルフィド、およびスルフヒドリル含有PEG化タキサン薬を、インビトロで種々のヒト腫瘍細胞系の増殖を抑制する能力について評価することができる。二種の接着性細胞系A549（ヒト肺癌）およびMCF-7（ヒト乳腫瘍）ならびに非-接着性細胞系Namalwa（Burkitt's リンパ腫）を、これらの化合物の細胞毒性の評価のために使用する。72時間細胞を化合物に露出し、直接分析で細胞の生存フラクションを測定する。A549 およびMCF-7を、コロニー形成率(plating efficiency)について分析し(Goldmacher et al, 102 J. Cell. Biol. 1312-1319 (1986))、Namalwaを成長自動補正により分析する(Goldmacher et al, 135 J. Immunol. 3648-3651 (1985))。次いで、IC₅₀値をこのデータから算出する。

【0065】

実施例 2

PEG化タキサンの合成

材料および方法

Electrothermal装置を用いて融点を測定し、補正をしなかった。Bruker AVANCE400 (400 MHz) スペクトロメーターでNMRスペクトルを記録した。化学シフトは、内部標準としてTMSに関するppmで報告する。Bruker Esquire 3000システムを使用してマスマスペクトルを得た。Hitachi U1200分光光度計で紫外線吸収スペクトルを記録した。Beckman Coulter システムGOLD 168 可変波長検出器およびVYDAC逆相C-18カラムを備えたBeckman Coulter GOLD 125システムを使用してHPLCを行った。Analtech GF シリカゲルTLC プレートで薄層クロマトグラフィーを行った。フラッシュカラムクロマトグラフィーのシリカゲルはBaker製だった。金属ナトリウム上で蒸留することによりテトラヒドロフランを乾燥させた。減圧下でカルシウムヒドリッド上の蒸留によりジメチルアクタミドおよびジメチルホルムアミドを乾燥させた。その他の使用した溶媒は試薬等級またはHPLC等級だった。

【0066】

40

7,10,13-Tri(triethylsilyl)-10-deacetylhaecatin III (2)

乾燥N,N-ジメチルホルムアミド(DMF, 8 mL)中の10-DAB (1) (2.64 g, 4.85 mmol)およびイミダゾール(1.65 g, 24.3 mmol)の溶液に、クロロトリエチルシラン(4.89 mL, 29.1 mmol)を、室温で注射器を使用して滴加した。反応混合物を室温で48時間攪拌し、酢酸エチル(300 mL)で希釈した。次いで、得られた混合物を塩化アンモニウム(100 mL x 3)、水(100 mL)、ブライン(100 mL)で洗浄し、無水硫酸マグネシウム上で乾燥させ、真空中で濃縮した。粗生成物を、ヘキサン中の20%酢酸エチルを溶出液として使用するシリカゲルカラムで精製し、白色固体を得た(4.08g, 95%)。

mp 187-189°C; ¹H NMR(CDCl₃) δ 0.65 (m, 18 H), 0.99 (m, 27 H), 1.11 (s, 3 H), 1.18 (s, 3 H), 1.64 (s, 3 H), 1.87 (m, 1 H), 1.97 (s, 3 H), 2.08 (dd, J = 15.2, 8.8

50

Hz, 1 H), 2.21 (dd, $J = 15.1, 8.2$ Hz, 1 H), 2.27 (s, 3 H), 2.51 (m, 1 H), 3.84 (d, $J = 7.0$ Hz, 1 H), 4.13 (d, $J = 8.3$ Hz, 1 H), 4.27 (d, $J = 8.3$ Hz, 1 H), 4.40 (dd, $J = 10.5, 6.6$ Hz, 1 H), 4.92 (m, 2 H), 5.18 (s, 1 H), 5.61 (d, $J = 7.1$ Hz, 1 H), 7.44 (t, $J = 7.3$ Hz, 2 H), 7.57 (t, $J = 7.3$ Hz, 1 H), 8.07 (d, $J = 7.4$ Hz, 1 H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 4.7, 5.2, 5.9, 6.9, 10.4, 14.8, 20.5, 22.4, 26.3, 37.3, 19.8, 42.4, 46.8, 58.2, 68.3, 72.6, 75.4, 75.7, 76.6, 79.5, 80.7, 83.9, 128.5, 129.6, 130.0, 133.4, 135.7, 139.3, 167.1, 169.7, 205.6; m/z LC/MS, $\text{C}_{47}\text{H}_{78}\text{O}_{10}\text{Si}_3\text{N}$ a^+ : 計算値: 909.48; 実測値: 909.28.

【0067】

7,10,13-トリ(トリエチルシリル)-2-デベンゾイル-10-デアセチルバカチン III (3) 10
 -10℃で乾燥THF (80 mL)中の2 (1.43 g, 1.59 mmol)の溶液に、トルエン(1.9 mL, 65% wt)中のRed-A1溶液を滴加し、反応混合物を60分間-10℃で攪拌した。飽和塩化アンモニウム水溶液(150 mL)を用いて反応を停止させ、酢酸エチル(75 mL \times 3)で水層を抽出した。次いで、抽出物を合わせ、無水硫酸ナトリウム上で乾燥させ、真空中で濃縮した。残留物をヘキサン中の25%酢酸エチルを溶出液として使用するシリカゲルカラムで精製し、白色固体を得た(1.21 g, 97%)。

mp 68-70 °C; ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.57 (m, 18 H), 0.94 (m, 27 H), 1.11 (s, 3 H), 1.55 (s, 3 H), 1.87 (m, 1 H), 1.88 (s, 3 H), 1.94 (m, 1 H), 2.00 (m, 1 H), 2.12 (s, 3 H), 2.47 (m, 1 H), 3.42 (d, $J = 6.6$ Hz, 1 H), 3.80 (d, $J = 6.6$ Hz, 1 H), 4.31 (dd, $J = 10.4, 6.5$ Hz, 1 H), 4.50(d, $J = 9.0$ Hz, 1 H), 4.57(d, $J = 9.1$ Hz, 1 H), 20
 4.63 (s, 1 H), 4.89 (d, $J = 8.3$ Hz, 1 H), 4.91 (m, 1 H), 5.08 (s, 1 H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 4.7, 5.1, 5.8, 6.7, 6.8, 10.5, 14.4, 20.5, 22.3, 37.3, 40.3, 42.5, 58.1, 65.0, 66.3, 72.6, 74.6, 75.7, 77.9, 78.5, 81.9, 83.7, 126.8, 127.4, 128.4, 135.9, 138.9, 169.6, 206.3; m/z LC/MS, $\text{C}_{40}\text{H}_{74}\text{O}_9\text{Si}_3\text{Na}^+$: 計算値: 805.45; 実測値: 805.33。

【0068】

7,10,13-トリエチル(トリエチルシリル)-2-デベンゾイル-2-(2,5-ジメトキシベンゾイル)-10-デアセチルバカチン III (4)

トルエン(4 mL)中の3 (366 mg, 0.468 mmol)、2,5-ジメトキシ安息香酸(892 mg, 4.9 mmol)、DCC (1.0 g, 4.9 mmol)、および4-ピロリジノピリジン (10 mg, 0.07 mmol)の溶液 30
 を24時間60℃で攪拌した。ヘキサン中の40%酢酸エチルを使用してTLCにより反応物をモニターした。室温に冷却後、反応物をヘキサン中の20%酢酸エチル10mLで希釈し、同一の溶液200mLを使用して短パッドシリカゲルを通過させシリカを洗浄し、得られたろ液を濃縮した。得られた粗残留物をヘキサン中の40%酢酸エチルを溶出液として使用するシリカゲルカラムで精製し、白色固体として4を得た。それには少量のDCCと酸とが含まれていた。さらに精製することなく生成物を使用した。少量の試料を同様にして精製し、分析用試料を得た。

^1H NMR (CDCl_3) δ 0.60 (m, 18 H), 0.90 (m, 27 H), 1.13 (s, 3 H), 1.16 (s, 3 H), 1.64 (s, 3 H), 1.88 (m, 1 H), 1.94 (s, 3 H), 2.13 (s, 3 H), 2.22 (m, 2 H), 2.35 (s, 3 H), 2.43 (m, 2 H), 3.76 (s, 3 H), 3.78 (d, $J = 7.1$ Hz, 1 H), 3.85 (s, 3 H), 40
 4.24 (d, $J = 2.0$ Hz, 1 H), 4.27 (m, 2 H), 4.35 (dd, $J = 6.4, 10.4$ Hz, 1 H), 4.88 (d, $J = 8.0$ Hz, 1 H), 4.96 (t, $J = 8.0$ Hz, 1 H), 5.15 (s, 1 H), 5.60 (d, $J = 6.4$ Hz, 1 H), 6.91 (d, $J = 8.9$ Hz, 1 H), 7.02 (dd, $J = 8.9, 3.4$ Hz, 1 H), 7.38 (d, $J = 3.4$ Hz, 1 H); m/z LC/MS, $\text{C}_{49}\text{H}_{82}\text{O}_{12}\text{Si}_3\text{Na}^+$: 計算値: 969.50; 実測値: 969.39。

【0069】

2-デベンゾイル-2-(2,5-ジメトキシベンゾイル)-10-デアセチルバカチン III (5)

ピリジン-アセトニトリル(1/1, 30 mL)中の4 (~400 mg)の溶液にHF/ピリジン(70:30, 5 mL)を0℃で滴加し、室温に温めながら混合物を24時間攪拌した。炭酸水素ナトリウム飽和水溶液を用いて反応を停止させた。次いで、反応混合物を酢酸エチル(60 mL)で希釈し、硫酸銅飽和水溶液(20 mL \times 2)および水(20 mL)で洗浄し、無水硫酸マグネシウム上で 50

乾燥させ、真空中で濃縮し、2-デベンゾイル-2-(2,5-ジメトキシベンゾイル)-10-デアセチルバカチンIII (5)を白色固体として得た(198 mg, 2工程で62% 収率)。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 1.09 (s, 3 H), 1.12 (s, 3 H), 1.77 (s, 3 H), 1.83 (m, 1 H), 2.06 (m, 4 H), 2.15 (s, 3 H), 2.27 (m, 2 H), 2.58 (m, 2 H), 3.81 (s, 3 H), 3.89 (s, 3 H), 3.93 (d, $J = 6.8$ Hz, 1 H), 4.18 (d, $J = 2.0$ Hz, 1 H), 4.24 (m, 1 H), 4.33 (m, 2 H), 4.92 (m, 2 H), 5.30 (s, 1 H), 5.62 (d, $J = 6.8$ Hz, 1 H), 6.93 (d, $J = 8.9$ Hz, 1 H), 7.06 (dd, $J = 8.9, 3.4$ Hz, 1 H), 7.38 (d, $J = 3.4$ Hz, 1 H); m/z LC/MS, $\text{C}_{31}\text{H}_{40}\text{O}_5\text{Na}^+$: 計算値: 627.25; 実測値: 627.31。

【0070】

7-トリエチルシリル-2-デベンゾイル-2-(2,5-ジメトキシベンゾイル)-10-デアセチルバカチンIII(6)

乾燥DMF (4 mL)中の上記のようにして得た5 (86mg, 0.139 mmol)およびイミダゾール(40 mg, 0.556 mmol)溶液に、クロロトリエチルシラン($70 \mu\text{L}$, 0.420 mmol)を、 0°C で注射器を使用して滴加した。氷浴を取り去り、反応混合物を室温で3時間攪拌し、酢酸エチル(50 mL)で希釈した。次いで、混合物を塩化アンモニウム水溶液(25 mL \times 2)、ブライン(25 mL)で洗浄し、無水硫酸マグネシウム上で乾燥させ、真空中で濃縮した。粗生成物をヘキサン中の60%酢酸エチルを溶出液として使用するシリカゲルカラムで精製し、白色固体を得た(87mg, 88%)。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.54 (m, 6 H), 0.90 (t, $J = 8.0$ Hz, 9 H), 1.02 (s, 3 H), 1.08 (s, 3 H), 1.72 (s, 3 H), 1.86 (m, 1 H), 2.10 (m, 4 H), 2.13 (s, 3 H), 2.22 (m, 2 H), 2.43 (m, 1 H), 2.58 (s, 1 H), 2.72 (m, 1 H), 3.78 (s, 3 H), 3.86 (d, $J = 7.1$ Hz, 1 H), 3.87 (s, 3 H), 4.25 (d, $J = 2.0$ Hz, 1 H), 4.29 (m, 2 H), 4.35 (dd, $J = 6.4, 10.4$ Hz, 1 H), 4.84 (br t, 1 H), 4.91 (d, $J = 8.6$ Hz, 1 H), 5.13 (d, $J = 2.0$ Hz, 1 H), 5.56 (d, $J = 6.8$ Hz, 1 H), 6.91 (d, $J = 8.9$ Hz, 1 H), 7.04 (dd, $J = 8.9, 3.4$ Hz, 1 H), 7.37 (d, $J = 3.4$ Hz, 1 H); m/z LC/MS, $\text{C}_{37}\text{H}_{54}\text{O}_5\text{SiNa}^+$: 計算値: 741.34; 測定値: 741.39。

【0071】

7-トリエチルシリル-2-デベンゾイル-2-(2,5-ジメトキシベンゾイル)バカチンIII (7)

乾燥THF (7 mL)中の6 (87 mg, 0.121 mmol)の溶液に、THF ($170 \mu\text{L}$, 0.170 mmol)中のLiHMDSを -40°C で注射器を用いて滴加した。 -40°C で5分間攪拌し、新たに蒸留した塩化アセチル($12 \mu\text{L}$, 0.170 mmol)を加えた。 -40°C で2時間後、塩化アンモニウム飽和水溶液(5 mL)で反応を停止させ、ジクロロメタン(10 mL \times 3)で抽出した。抽出物を合わせ、無水硫酸マグネシウム上で乾燥させ、真空中で濃縮した。粗生成物をヘキサン中の60%酢酸エチルを溶出液として使用するシリカゲルカラムで精製し、7を白色固体として得た(70 mg, 77% 収率)。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.55 (m, 6 H), 0.91 (t, $J = 8.0$ Hz, 9 H), 1.06 (s, 3 H), 1.18 (s, 3 H), 1.70 (s, 3 H), 1.72 (m, 1 H), 1.86 (m, 1 H), 2.15 (s, 3 H), 2.17 (s, 3 H), 2.22 (m, 3 H), 2.49 (m, 1 H), 2.61 (s, 1 H), 3.80 (s, 3 H), 3.81 (d, $J = 7.1$ Hz, 1 H), 3.88 (s, 3 H), 4.28 (d, $J = 8.4$ Hz, 1 H), 4.31 (d, $J = 8.4$ Hz, 1 H), 4.44 (dd, $J = 6.4, 10.4$ Hz, 1 H), 4.84 (br t, 1 H), 4.91 (d, $J = 8.6$ Hz, 1 H), 5.61 (d, $J = 6.4$ Hz, 1 H), 6.43 (s, 1 H), 6.93 (d, $J = 9.2$ Hz, 1 H), 7.06 (dd, $J = 9.2, 3.2$ Hz, 1 H), 7.37 (d, $J = 3.2$ Hz, 1 H); m/z LC/MS, $\text{C}_{39}\text{H}_{56}\text{O}_5\text{SiNa}^+$: 計算値: 783.35; 実測値: 783.36。

【0072】

7-(トリエチルシリル)-2'-(トリイソプロピルシリルオキシ)-3'-デフェニル-3'-(イソブテニル)-2-デベンゾイル-2-(2,5-ジメトキシベンゾイル)-10-アセチルドセタクセル(9)

乾燥THF (7 mL)中の7(70 mg, 0.092 mmol)および β -ラクタム8(52 mg, 0.13 mmol)の溶液に、 -40°C でTHF (0.13 mL, 0.13 mmol)中の1.0 M LiHMDS溶液を滴加し、得られた溶液を -40°C で3時間攪拌した。塩化アンモニウム飽和水溶液(10 mL)で反応を停止させ、水

層を酢酸エチル(15 ml x 3)で抽出した。抽出物を合わせ、無水硫酸マグネシウム上で乾燥させ、真空中で濃縮した。残留物をヘキサン中の40%酢酸エチルを溶出液として使用するシリカゲルカラムで精製し、結合生成物9を白色固体として得た(62 mg, 61%)。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.55 (m, 6 H), 0.91 (t, $J = 8.0\text{ Hz}$, 9H), 1.11 (m, 27 H), 1.20 (s, 3 H), 1.23 (s, 3 H), 1.37 (m, 10 H), 1.69 (s, 3 H), 1.72 (m, 6 H), 1.89 (m, 1 H), 1.98 (s, 3 H), 2.15 (s, 3 H), 2.17 (s, 3 H), 2.17 (s, 3 H), 2.34 (m, 1 H), 2.49 (m, 2 H), 3.74 (d, $J = 6.8\text{ Hz}$, 1 H), 3.80 (s, 3 H), 3.96 (s, 3 H), 4.27 (d, $J = 8.0\text{ Hz}$, 1 H), 4.41 (m, 3 H), 4.75 (t, $J = 8.0\text{ Hz}$, 1 H), 4.88 (m, 2 H), 5.34 (d, $J = 8.4\text{ Hz}$, 1 H), 5.67 (d, $J = 6.8\text{ Hz}$, 1 H), 6.07 (t, $J = 9.0\text{ Hz}$, 1 H), 6.45 (s, 1 H), 6.93 (d, $J = 9.2\text{ Hz}$, 1 H), 7.05 (dd, $J = 9.2, 3.2\text{ Hz}$, 1 H), 7.29 (d, $J = 2.8\text{ Hz}$, 1 H); m/z LC/MS, $\text{C}_{60}\text{H}_{13}\text{NO}_{17}\text{Si}_2\text{Na}^+$: 計算値: 1180.61; 実測値: 1180.47。

【0073】

7-(トリエチルシリル)-2'-(トリイソプロピルシリルオキシ)-3'-デフェニル-3'-(イソブテニル)-2-デベンゾイル-2-(2,5-ジメトキシベンゾイル)-ドセタクセル(10)

エタノール(1.5 mL)中の9 (36 mg, 0.031 mmol)の溶液に、室温でヒドラジンモノハイドレート(1 mL)を加えた。反応物を室温で攪拌し、ヘキサン中の40%酢酸エチルを使用してTLCによりモニターした(2回展開)。1時間後、TLCにより反応を完了し、塩化アンモニウム飽和水溶液(10 mL)を用いて反応を停止した。酢酸エチル(10 ml x 3)で水層を抽出した。抽出物を合わせ、無水硫酸マグネシウム上で乾燥させ、真空中で濃縮した。残留物をヘキサン中の35%酢酸エチルを溶出液として使用するシリカゲルカラムで精製し、脱アセチル化生成物10を白色固体として得た(19 mg, 57%)。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.56 (m, 6 H), 0.92 (t, $J = 8.0\text{ Hz}$, 9 H), 1.11 (m, 27 H), 1.22 (s, 3 H), 1.23 (s, 3 H), 1.38 (m, 10 H), 1.69 (s, 3 H), 1.72 (m, 3 H), 1.78 (s, 3 H), 1.89 (s, 3 H), 1.93 (m, 1 H), 2.18 (s, 3 H), 2.32 (m, 1 H), 2.44 (m, 2 H), 3.81 (s, 3 H), 3.82 (d, $J = 6.8\text{ Hz}$, 1 H), 3.96 (s, 3 H), 4.25 (d, $J = 2.0\text{ Hz}$, 1 H), 4.29 (d, $J = 8.0\text{ Hz}$, 1 H), 4.34 (dd, $J = 6.4, 10.4\text{ Hz}$, 1 H), 4.39 (d, $J = 2.0\text{ Hz}$, 1 H), 4.42 (d, $J = 8.0\text{ Hz}$, 1 H), 4.76 (t, $J = 9.2\text{ Hz}$, 1 H), 4.89 (m, 2 H), 5.11 (d, $J = 2.0\text{ Hz}$, 1 H), 5.34 (d, $J = 8.8\text{ Hz}$, 1 H), 5.64 (d, $J = 6.4\text{ Hz}$, 1 H), 6.13 (t, $J = 9.0\text{ Hz}$, 1 H), 6.94 (d, $J = 9.2\text{ Hz}$, 1 H), 7.06 (dd, $J = 9.2, 3.2\text{ Hz}$, 1 H), 7.29 (d, $J = 2.8\text{ Hz}$, 1 H); m/z LC/MS, $\text{C}_{58}\text{H}_{13}\text{NO}_{16}\text{Si}_2\text{Na}^+$: 計算値: 1138.60; 実測値: 1138.43。

【0074】

15-ヒドロキシ-4,7,10,13-テトラオキサペンタデカン酸tert-ブチルエステル(11)

攪拌しながら300 mLの無水THFに80mg (0.0025 mol)の金属ナトリウムおよび128 mLのテトラエチレングリコール(0.94 mol)を加えた。ナトリウムが完全に溶解した後、tert-ブチルアクリレート(24 mL, 0.33 mol)を加えた。室温で20時間攪拌し、8 mLの1.0 M HClで中和した。真空中で溶媒を除き、残留物をブライン(250 mL)中に懸濁させ、酢酸エチル(3 x 125 mL)で抽出した。有機層を合わせ、ブライン(100 mL)、次いで水(100 mL)で洗浄し、硫酸ナトリウム上で乾燥させ、溶媒を除去した。得られた無色の油状物を真空中で乾燥させ、77.13 g (73%)の生成物を得た。

$^1\text{H NMR}$: 1.40 (s, 9H), 2.49 (t, 2 H, $J = 6.4\text{ Hz}$), 3.59 - 3.73 (m, 18 H)。

* SeitzおよびKunzの, J. Org. Chem., 1997, 62, 813-826にしたがった。

【0075】

15-ブromo-4,7,10,13-テトラオキサペンタデカン酸tert-ブチルエステル(12)

1 mLピリジン中の上で得られた11(1.0 g, 3.11 mmol)の攪拌溶液に、0°Cでゆっくりと注射器によりリントリプロミド(0.116 mL, 1.22 mmol)を加えた。得られた溶液を一夜攪拌し、その時点でTLCにより反応を完了させた。反応容器中に水(25 mL)を注ぎ、メチレンクロリド(3 x 25 mL)中に有機物を抽出した。有機物層を合わせ、炭酸水素ナトリウム(25 mL)、次いで、ブライン(25 mL)で洗浄し、硫酸マグネシウム上で乾燥させ、真空中で溶媒を除去した。残留物を溶出液として酢酸エチルを使用するシリカゲルで精製し、400mg

(35%)の純粋生成物を得た。

^1H NMR: δ 1.37 (s, 9H), 2.43 (t, 2 H, $J = 6.4$ Hz), 3.40 (t, 2 H, $J = 6.4$ Hz), 3.53–3.61 (m, 12H), 3.64 (t, 2 H, $J = 6.4$ Hz), 3.74 (t, 2 H, $J = 6.4$ Hz); ^{13}C NMR: 27.90, 30.13, 36.06, 66.68, 70.17, 70.31, 70.32, 70.39, 70.46, 70.99, 80.22, 170.65。

* Bradshaw et al., J. Het. Chem., 1990, 27, 347–349の修正した手順。

【0076】

15-メルカプト-4,7,10,13-テトラオキサペンタデカン酸tert-ブチルエステル(13)

フラスコにAmberlite イオン交換樹脂IRA-400(Cl^- 体) (1.3g, Cl^- の4.94 mmol)を入れ、8 mL MeOH中に溶解したNaSH H_2O (0.218 g, 3.9 mmol)溶液を攪拌しながら加えた。1時間攪拌後、その時点で反応物は曇り、1.5 mL の MeOH中の塩酸トリエチルアミン(0.180 g, 1.30 mmol)溶液を加えた。次いで、2 mL のMeOH中の上記で得た12(0.500 g, 1.3 mmol)溶液を滴加し、室温で16時間攪拌した。次いで、樹脂を濾過して除き、30 mL の0.5 M HClを加えた。有機層を分離し、メチレンクロリド(2 x 25 mL)中に水層を抽出した。有機層を合わせ、無水硫酸マグネシウム上で乾燥させ、真空中で溶媒を除去した。残留物を溶出液として酢酸エチルを使用するシリカゲルで精製し、250mg (60%収率)のチオール13を得た。

^1H NMR: 1.41 (s, 9H), 2.46 (t, 2 H, $J = 6.4$ Hz), 2.85 (t, 2 H, $J = 6.4$ Hz), 3.55–3.62 (m, 12 H), 3.64–3.71 (m, 4 H); ^{13}C NMR: 27.98, 36.14, 38.27, 66.77, 69.51, 70.25, 70.27, 70.39, 70.41, 70.48, 70.52, 80.36, 170.77; MS m/z , 計算値: 361.17, 実測値: 361.94。

【0077】

15-(メチルジチオ)-4,7,10,13-テトラオキサペンタデカン酸tert-ブチルエステル(14)

8 mLのエタノールおよび1 mL の NaH_2PO_4 (0.5 M, pH 7.0)中の15-メルカプト-4,7,10,13-テトラオキサペンタデカン酸tert-ブチルエステル(13, 440 mg, 1.30 mmol)に、6 mLのTHF中に溶解させたメチルメタンチオスルホネートを滴加した。一夜Ar下で攪拌後、混合物を蒸発させて乾燥させ、 SiO_2 クロマトグラフィー(2:1 EtOAc/ヘキサン)で精製し、336mg (67%)の標記化合物14を得た。

^1H NMR (CDCl_3) 3.71 (m, 2H), 3.60 (m, 12H), 2.88 (t, 2H, $J = 6.7$ Hz), 2.48 (t, 2H, $J = 6.1$ Hz), 2.40 (s, 3H), 1.43 (s, 9H); MS 407.1 ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$ 。

【0078】

15-(メチルジチオ)-4,7,10,13-テトラオキサペンタデカン酸(15)

10 mLのジクロロメタン中の15-(メチルジチオ)-4,7,10,13-テトラオキサペンタデカン酸tert-ブチルエステル(14, 335 mg, 0.872 mmol)に1 mL のトリエチルシランおよび2.0 mLのトリフルオロ酢酸を加えた。一夜Ar下で攪拌後、混合物を10 mLのトルエンで希釈し、蒸発させた。混合物をトルエン(3 x 10 mL)で三回共蒸発させ、145mg (51%)の標記化合物15を得た。

^1H NMR (CDCl_3) 3.72 – 3.64 (m, 14H), 2.87 (m, 2H), 2.61 (t, 2H, $J = 6.1$ Hz), 2.40 (s, 3H); MS 351.07 ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$ 。

【0079】

7-(トリエチルシリル)-2'-(トリイソプロピルシリルオキシ)-3'-デフェニル-3'-(イソブテニル)-2-デベンゾイル-2-(2,5-ジメトキシベンゾイル)-10-(15-メチルジチオ-4,7,10,13-テトラオキサペンタデノイル)-ドセタクセル(16)

メチレンクロリド(0.5 mL)中の上記で得た10(9 mg, 0.008 mmol)の溶液に、DMAP (1 mg), および酸15 (10 mg, 0.03 mmol, 0.5 mL メチレンクロリドに溶解させたもの)を加えた。次いで、この混合物にDIC (0.015 mL, 0.08 mmol)を加え、得られた混合物を一夜攪拌した。TLC分析により、新しいスポットと多くの出発物質のスポットが明らかとなったので、さらに1 mg のDMAPと0.015 mLのDICを加え、さらに2日間攪拌した。完了したら、塩化アンモニウム飽和水溶液(10 mL)で反応を停止し、メチレンクロリド(10 mL x 3)中に抽出した。抽出物を合わせ、無水硫酸マグネシウム上で乾燥させ、真空中で濃縮した。残

留物を、溶出液としてヘキサン中の50%酢酸エチルを使用するシリカゲルカラムで精製し、白色固体としてPEG化生成物16を得た(5 mg, 46%)。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.56 (m, 6 H), 0.91 (m, 12 H), 1.11 (m, 21 H), 1.20 (s, 3 H), 1.22 (s, 3 H), 1.27 (m, 3 H), 1.38 (s, 9 H), 1.56 (s, 3 H), 1.69 (s, 3 H), 1.72 (s, 6H), 1.75 (s, 3 H), 1.90 (m, 1 H), 1.99 (s, 3 H), 2.17 (s, 3 H), 2.36 (m, 1H), 2.42 (s, 3 H), 2.51 (m, 2 H), 2.74 (m, 2 H), 2.91 (t, $J = 6.8$ Hz, 2 H), 3.21 (br s, 1 H), 3.66 (m, 12 H), 3.75 (t, $J = 6.8$ Hz, 2 H), 3.81 (s, 3 H), 3.82 (m, 2 H), 3.97 (s, 3 H), 4.28 (d, $J = 8.0$ Hz, 1 H), 4.42 (m, 3 H), 4.76 (t, $J = 6.4$ Hz, 1 H), 4.88 (m, 2 H), 5.35 (d, $J = 8.0$ Hz, 1 H), 5.67 (d, $J = 6.4$ Hz, 1 H), 6.07 (t, $J = 8.8$ Hz, 1 H), 6.46 (s, 1 H), 6.94 (d, $J = 9.2$ Hz, 1 H), 7.06 (dd, $J = 9.2$ 10, 3.2 Hz, 1 H), 7.30 (d, $J = 2.8$ Hz 1 H); m/z LC/MS, $\text{C}_{70}\text{H}_{115}\text{NO}_{21}\text{Si}_2\text{S}_2\text{Na}^+$: 計算値: 1148.72; 実測値: 1148.48。

【0080】

3'-デフェニル-3'-(イソブテニル)-2-デベンゾイル-2-(2,5-ジメトキシベンゾイル)-10-(15-メチルジチオ-4,7,10,13-テトラオキサペンタデカノイル)-ドセタクセル(17)

ピリジン-アセトニトリル(1/1, 1.5 mL)中の上述16(5mg, 0.0035 mmol)の溶液に0℃でH F/ピリジン(70:30, 0.1 mL)を加え、得られた混合物を室温に温めながら24時間攪拌した。飽和炭酸水素ナトリウムで反応を停止した。次いで、反応混合物を酢酸エチル(5 mL x 2)で希釈し、有機層を合わせて、水(5 mL)で洗浄し、無水硫酸マグネシウム上で乾燥させ、真空中で濃縮した。残留物を溶出剤として酢酸エチルを使用するシリカゲルカラムで精 20 製し、白色固体として最終生成物17を得た(2.7 mg, 68%)。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 1.25 (s, 3 H), 1.28 (s, 3 H), 1.38 (s, 9 H), 1.69 (s, 3 H), 1.72 (m, 3 H), 1.75 (s, 3 H), 1.87 (m, 4 H), 2.17 (s, 3 H), 2.35 (m, 1H), 2.42 (s, 3 H), 2.54 (m, 2 H), 2.81 (m, 2 H), 2.91 (t, $J = 6.8$ Hz, 2 H), 3.08 (br s, 1 H), 3.24 (d, $J = 6.8$ Hz, 1 H), 3.66 (m, 12 H), 3.75 (t, $J = 6.8$ Hz, 2 H), 3.81 (s, 3 H), 3.82 (m, 2 H), 3.95 (s, 3 H), 4.16 (d, $J = 8.8$ Hz, 1 H), 4.29 (d, $J = 8.0$ Hz, 1 H), 4.34 (m, 1 H), 4.41 (d, $J = 8.0$ Hz, 1 H), 4.72 (m, 2 H), 4.93 (d, $J = 8.0$ Hz, 1 H), 5.35 (br d, $J = 6.0$ Hz, 1 H), 5.66 (d, $J = 6.8$ Hz, 1 H), 6.16 (t, $J = 9.0$ Hz, 1 H), 6.32 (s, 1 H), 6.95 (d, $J = 9.2$ Hz, 1 H), 7.06 (dd, $J = 9.2$, 3.2 30 Hz, 1 H), 7.30 (d, $J = 2.8$ Hz, 1 H); m/z LC/MS, $\text{C}_5\text{H}_6\text{NO}_2\text{S}_2\text{Na}^+$: 計算値: 1178.47; 実測値: 1178.39。

【0081】

2'-(トリイソプロピルシリルオキシ)-3'-デフェニル-3'-(イソブテニル)-2-デベンゾイル-2-(2,5-ジメトキシベンゾイル)-ドセタクセル(18)

エタノール(9.0 mL)中の5%塩酸溶液を、10(86.4 mg, 0.0774 mmol)に0℃で加えた。次第に温度を室温に温めながら、 N_2 下で混合物を攪拌した。5時間後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で反応を停止させ、酢酸エチル(25 mL x 2)で抽出した。次いで、酢酸エチル層を合わせ、水(25 mL x 2)で洗浄し、無水硫酸マグネシウム上で乾燥させ、真空中で濃縮した。粗残留物を溶出剤としてヘキサン中の50%酢酸エチルを使用するシリカゲルカラムで精製した。白色固体として生成物18を単離した(61.5mg, 79%)。 40

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 1.08 (s, 27 H), 1.23 (s, 3H), 1.36 (s, 9 H), 1.58 (m, 1 H), 1.67 (s, 3 H), 1.70 (s, 3 H), 1.76 (s, 3 H), 1.82 (m, 2 H), 1.88 (s, 3 H), 2.16 (s, 3 H), 2.31 (m, 1 H), 2.50 (m, 2 H), 3.17 (br s, 1 H), 3.79 (s, 3 H), 3.85 (d, $J = 6.4$ Hz, 1 H), 3.95 (s, 1 H), 4.18 (m, 2 H), 4.29 (d, $J = 8.4$ Hz, 1 H), 4.37 (d, $J = 2.0$ Hz, 1 H), 4.41 (d, $J = 8.4$ Hz, 1 H), 4.74 (t, $J = 9.0$ Hz, 1 H), 4.90 (m, 2 H), 5.17 (d, $J = 1.6$ Hz, 1 H), 5.32 (d, $J = 9.2$ Hz, 1 H), 5.65 (d, $J = 6.8$ Hz, 1 H), 6.10 (t, $J = 8.8$ Hz, 1 H), 6.93 (d, $J = 9.2$ Hz, 1 H), 7.05 (dd, $J = 9.2$, 3.0 Hz, 1 H), 7.28 (d, $J = 3.0$ Hz, 1 H); m/z LC/MS, $\text{C}_{52}\text{H}_{79}\text{NO}_{16}\text{SiNa}^+$: 計算値: 1024.52; 実測値: 1024.31。

【0082】

2'-(トリイソプロピルシリルオキシ)-3'-デフェニル-3'-(イソブテニル)-2-デベンゾイル-2-(2,5-ジメトキシベンゾイル)-7-(15-メチルジチオ-4,7,10,13-テトラオキサペンタデカノイル)-ドセタクセル(19)

メチレンクロリド(0.9 mL)中の上述18(22.8 mg, 0.0229 mmol)、EDC (8.73 mg, 0.0475 mmol)およびDMAP (2.79 mg, 0.00229 mmol)溶液に、メチレンクロリド(0.1 mL)中の上述の15(7.5 mg, 0.0229 mmol)を加えた。室温で一夜 N_2 下、反応物を攪拌した。飽和塩化アンモニウム水溶液で反応を停止し、メチレンクロリド(25 mL \times 2)中に抽出した。有機層を合わせ、水(15 mL \times 1)で洗浄し、無水硫酸マグネシウム上で乾燥させ、真空中で濃縮した。残留物を溶出剤としてヘキサン中60%酢酸エチルを使用するシリカゲルカラムで精製すると、生成物19(9.4 mg, 0.007 mmol)と相当量の出発物質18(11.3 mg, 0.0113 mmol)とを得た。メチレンクロリド(0.9 mL)中に出発物質を、EDC (4.3 mg, 0.0226 mmol) およびDMAP (1.4 mg, 0.0113 mmol)と共に再溶解させた。メチレンクロリド(0.1 mL)中の上述の15(3.33 mg, 0.01 mmol)を加え、室温で72時間 N_2 下、反応物を攪拌した。上述したようにして生成物19を抽出し、精製し、最初のフラクションと合わせた(15.3 mg, 51 %)。
 1H NMR($CDCl_3$) δ 1.10 (s, 27 H), 1.23 (m, 6 H), 1.37 (s, 9 H), 1.68 (s, 3 H), 1.71 (s, 3 H), 1.87 (s, 3 H), 1.92 (s, 3 H), 2.16 (s, 3 H), 2.33 (m, 2 H), 2.41 (s, 3 H), 2.51 (m, 4 H), 2.89 (t, J = 6.8 Hz, 2 H), 3.20 (br s, 1 H), 3.65 (m, 16 H), 3.74 (t, J = 6.8 Hz, 2 H), 3.80 (s, 3 H), 3.95 (m, 4 H), 4.31 (d, J = 8.0 Hz, 1 H), 4.38 (d, J = 2.0 Hz, 1 H), 4.44 (d, J = 8.4 Hz, 1 H), 4.76 (t, J = 9.4 Hz, 1 H), 4.90 (m, 2 H), 5.28 (s, 1 H), 5.33 (d, J = 8.8 Hz, 1 H), 5.48 (dd, J = 7.2, 10.8 Hz, 1 H), 5.65 (d, J = 6.8 Hz, 1 H), 6.11 (t, J = 9.2 Hz, 1 H), 6.94 (d, J = 9.2 Hz, 1 H), 7.07 (dd, J = 3.2, 9.2 Hz, 1 H), 7.28 (d, J = 3.2 Hz, 1 H); m/z LC/MS, $C_{64}H_{101}NO_{21}S_2SiNa^+$: 計算値: 1334.61; 実測値: 1334.59。

【0083】

3'-デフェニル-3'-(イソブテニル)-2-デベンゾイル-2-(2,5-ジメトキシベンゾイル)-7-(15-メチルジチオ-4,7,10,13-テトラオキサペンタデカノイル)-ドセタクセル(20)

N_2 下、上述の19 (15.3 mg, 0.01166 mmol)をピリジン-アセトニトリル(1/1, 2.0 mL)に溶解させた。HF/ピリジン(70:30, 0.16 mL)を0°Cで加え、室温に温めながら24時間反応物を攪拌した。飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で反応を停止させ、酢酸エチル(20 mL \times 2)中に抽出した。有機層を合わせ、水(15 mL \times 1)で洗浄し、無水硫酸ナトリウム上で乾燥させ、真空中で濃縮した。粗残留物を溶出剤としてヘキサン中80%酢酸エチルを使用するシリカゲルカラムで精製し、20を得た(11.8 mg, 87.5 %).
 1H NMR ($CDCl_3$) δ 1.24 (s, 6 H), 1.38 (s, 9 H), 1.69 (s, 3 H), 1.74 (s, 3 H), 1.88 (s, 3 H), 1.92 (m, 1 H), 1.93 (s, 3 H), 2.17 (s, 3 H), 2.32 (m, 2 H), 2.41 (s, 3 H), 2.50 (m, 4 H), 2.9 (t, J = 6.8 Hz, 2 H), 3.10 (br s, 1 H), 3.28 (d, J = 6.4 Hz, 1 H), 3.64 (m, 16 H), 3.72 (t, J = 6.8 Hz, 2 H), 3.80 (s, 3 H), 3.92 (m, 4 H), 4.03 (br s, 1 H), 4.15 (dd, J = 2.0, 6.4 Hz, 1 H), 4.29 (d, J = 8.0 Hz, 1 H), 4.42 (d, J = 8.4 Hz, 1 H), 4.75 (m, 2 H), 4.90 (d, J = 8.0 Hz, 1 H), 5.28 (s, 1 H), 5.33 (br d, J = 8.0 Hz, 1 H), 5.46 (dd, J = 7.2, 10.8 Hz, 1 H), 5.64 (d, J = 6.4 Hz, 1 H), 6.14 (t, J = 8.4 Hz, 1 H), 6.94 (d, J = 8.8 Hz, 1 H), 7.06 (d, J = 3.2, 8.8 Hz, 1 H), 7.29 (d, J = 3.2 Hz, 1 H); m/z LC/MS, $C_{65}H_{81}NO_{21}S_2Na^+$: 計算値: 1178.47; 実測値1178.38。

【0084】

実施例 3

抗体に対する複合

ジスルフィド連結による抗体に対するチオール含有PEG化タキサンの複合

ジスルフィド連結による抗体、またはそのフラグメントに対するチオール含有PEG化タキサンの複合は二工程で行う。第一工程では、ジチオピリジル基を、Carlsson et alにより記載された通りにして、サクシンイミジルピリジルジチオペンタノエート(SPP)を使用して抗体または抗体フラグメント中に導入する。次いで、チオピリジル基を、チオール含

有タキサンと反応させて置換し、複合体を生成する。

【0085】

抗体-SS-PEG化タキサン複合体の製造

抗体、抗-B4、MY9、抗-EGFレセプターおよびN901、またはそのフラグメントを、文献に記載されている通りにして、SPDPまたはSPPを用いて変性させる。1抗体分子当りに平均で1~10個の間のジチオピリジル基を導入する。

【0086】

1 mM EDTAを含有するpH 6.5の0.1 Mリン酸カリウムバッファー中に1 mg/mlの濃度のジチオピリジル変性抗体溶液を、25℃でチオール含有PEG化タキサンで処置する(1.7 モル当量/ジチオピリジル基)。変性抗体またはそのフラグメントからのチオピリジンの放出を343 nmにおいて分光光度計でモニターし、約20時間内に完了することが判明する。抗体-タキサン複合体を、Sephadex G-25カラムを通すゲル濾過により精製し、未反応薬物およびその他の低分子量物質を除く。抗体分子当りに結合したタキサン分子の数を230 nm および 275 nm間の比率を測定することにより決定する。この方法により、抗体分子当り平均1~10個のタキサン分子がジスルフィド結合により連結され得る。

【0087】

非開裂性チオエーテル連結による抗体に対するチオール含有PEG化タキサンの複合

チオール含有PEG化タキサンの複合は二工程で行う。まず、抗体、またはそのフラグメントを、サクシンイミジルマレイミドメチルシクロヘキサンカルボキシレート(SMCC)と反応させ、マレイミド基を導入する。次いで、変性抗体をチオール含有PEG化タキサンと反応させ、チオエーテル連結を形成する。

【0088】

抗体-PEG化タキサンの複合体の製造(非開裂性)

抗体、抗-B4、MY9、抗-EGFレセプターおよびN901、またはそのフラグメントを、文献に記載されている通りにして、SMCCを用いて変性させる。

【0089】

変性抗体または抗体フラグメントをチオール含有タキサン(1.25モル当量/マレイミド基)で処置する。一夜4℃で混合物をインキュベートする。上述したようにして抗体-タキサン複合体を精製する。典型的には、抗体分子当りに平均1~10個のタキサン分子が連結される。

【0090】

実施例 4

PEG化タキサンのその他の連結方法

酸不安定性連結基

PEG化タキサンを、化学文献に記載されている標準的な方法により、ジシクロヘキシル-カルボジイミドおよびジメチルアミノピリジン(DMAP)の存在下でN-tboc-L-アラニンのようなN-保護アミノ酸を用いてエステル化できる。トリフルオロ酢酸を用いるt-boc保護する基の開裂は、末端アミノ基を含有するタキサンエステルを与える。このアミノ基含有タキサンを、前述した酸不安定性連結基により、抗体、またはそのフラグメント、およびその他の細胞結合剤に連結できる(Blaettler et al, 24 Biochemistry, 1517-1524 (1985), 米国特許第4,542,225号, 第4,569,789号および第4,764,368号)。

【0091】

光不安定性連結基

上述したアミノ基-含有PEG化タキサン誘導体を、前述した光不安定性連結基により細胞結合剤に連結できる。(Senter et al, 42 Photochemistry and Photobiology, 231-237 (1985), 米国特許第4,625,014号)

ペプチダーゼ不安定性連結基

上述したアミノ基-含有PEG化タキサンもペプチドスパーサー連結基を介して細胞結合剤に連結できる。薬物および巨大分子プロテインキャリアー間の短ペプチドスパーサーが血清中で安定であるが、しかし細胞内リゾソームペプチダーゼにより容易に加水分解され

ることが以前示された(Trouet et al, 79 Proc. Nat'l. Acad. Sci., 626-629 (1982))。アミノ基含有タキサンを、1-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]-3-エチルカルボジイミド-HClのような縮合剤を使用して、Ala-Leu、Leu-Ala-LeuまたはAla-Leuのダイマーのようなペプチドで縮合し、タキサンのペプチド誘導体を与えることができ、次いで、当該タキサンを細胞結合剤に連結できる。

【0092】

エステラーゼ不安定性連結基

PEG化タキサンを、そのヒドロキシル基と無水コハク酸と反応させることによりエステル化でき、次いで、細胞結合剤に連結させ、細胞内エステラーゼにより開裂されて薬物を遊離することのできる複合体を生成できる。(例えば、Aboud-Pirak et al, 38 Biochem. Pharmacol., 641-648 (1989), Laguzza et al, 32 J. Med. Chem., 549-555 (1989)参照)

。

【図面の簡単な説明】

【0093】

【図1】図1は、米国特許第6,340,701号および第6,372,738号に記載されているより能力のあるタキサンの幾つかを含む、種々のタキサンの構造を表す化学式である。

【図2】図2は、本発明のポリエチレングリコール含有タキサンの幾つかをの構造を表す化学式である。

【図3】図3は、本発明のタキサンを調製するための出発物質である10-デアセチルバカチンIIIの構造および親タキソイドの構造を示す。

【図4】図4は、本発明のポリエチレングリコール含有タキサンの調製のための合成スキームを示す。

【図5】図5は、本発明のポリエチレングリコール含有タキサンの調製のための合成スキームを示す。

【図6】図6は、本発明のポリエチレングリコール含有タキサンの調製のための合成スキームを示す。

【図7】図7は、本発明のポリエチレングリコール含有タキサンの調製のための合成スキームを示す。

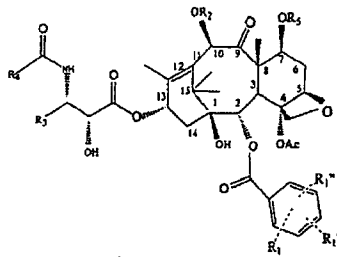
【図8】図8は、本発明のポリエチレングリコール含有タキサンの調製のための合成スキームを示す。

【図9】図9は、本発明のポリエチレングリコール含有タキサンのインビトロ細胞毒性を示す。

【図10】図10は、本発明のポリエチレングリコール含有タキサンのインビトロ細胞毒性を示す。

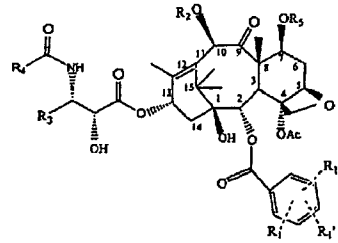
【図11】図11は、本発明のポリエチレングリコール含有タキサンのインビトロ細胞毒性を示す。

【図 1】



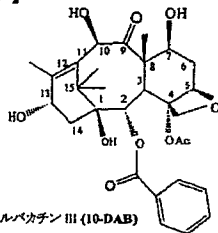
化合物	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
パクリタキセル (Taxol)	-H	-COCH ₃	-C ₆ H ₅	-C ₆ H ₅	H
ドセタキセル (Taxotere)	-H	-H	-C ₆ H ₅	-OC(CH ₃) ₃	H
より能力のある タキサン	-OCH ₃ -F -Cl	-COCH ₂ CH ₃ -COCH ₂ CH ₃ -COCH ₂ CH ₃	-CH=C(CH ₃) ₂ -CH=C(CH ₃) ₂ -CH=C(CH ₃) ₂	-OC(CH ₃) ₃ -OC(CH ₃) ₃ -OC(CH ₃) ₃	H H H

【図 2】

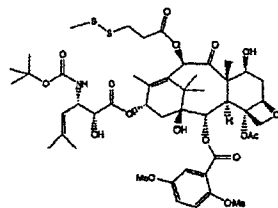


	R ₁	R _{1'}	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
1	-OMe	-OMe	-COCH ₂ CH ₂ (OCH ₂ CH ₂) ₂ SH -CONHCH ₂ CH ₂ (OCH ₂ CH ₂) ₂ SH -CH ₂ CH ₂ (OCH ₂ CH ₂) ₂ SH	-CH=C(CH ₃) ₂ -CH ₂ CH(CH ₃) ₂ -C ₆ H ₅	-OC(CH ₃) ₃ Xは -C ₆ H ₅ -COCH ₂ CH ₃ -CH ₂ CH ₂ Xは -CONHCH ₂ CH ₃	H
2	-OMe	-OMe	-H -COCH ₂ CH ₃ -CH ₂ CH ₂ Xは -CONHCH ₂ CH ₃	-CH=C(CH ₃) ₂ -CH ₂ CH(CH ₃) ₂ -C ₆ H ₅	-OC(CH ₃) ₃ Xは -C ₆ H ₅ -COCH ₂ CH ₂ (OCH ₂ CH ₂) ₂ SH -CONHCH ₂ CH ₂ (OCH ₂ CH ₂) ₂ SH -CH ₂ CH ₂ (OCH ₂ CH ₂) ₂ SH	H

【図 3】



10-デアセチルパクリタキセル III (10-DAB)



税タキソイド 1

Figure 4a

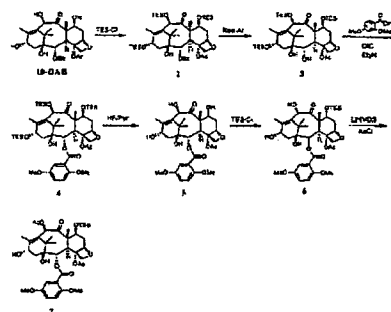
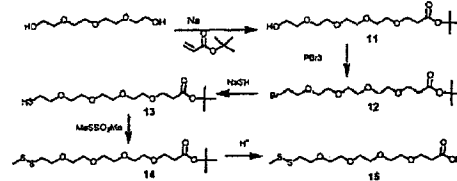
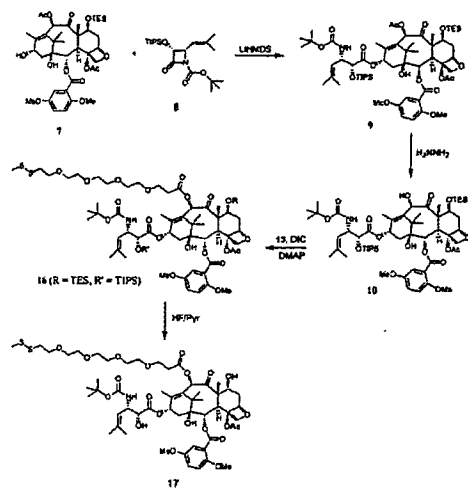


Figure 4b



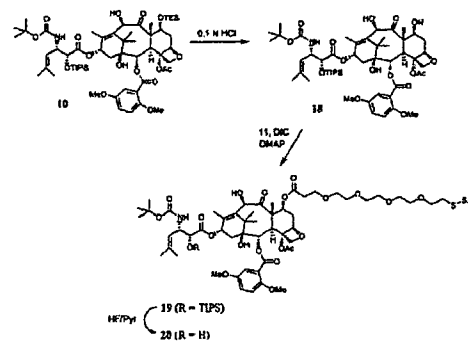
【図 5】

Figure 5

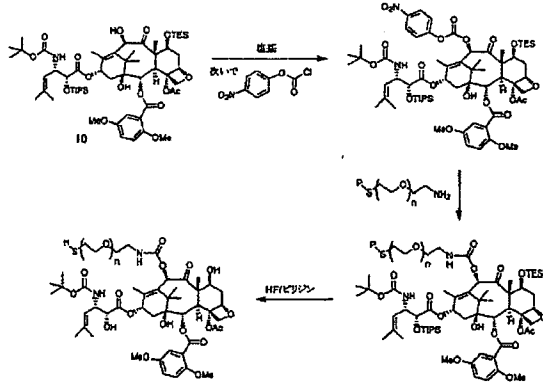


【図 6】

Figure 6

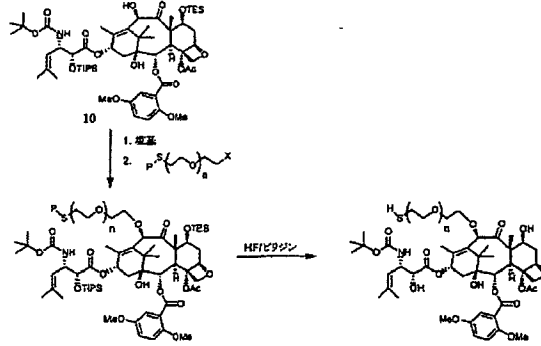


【図 7】



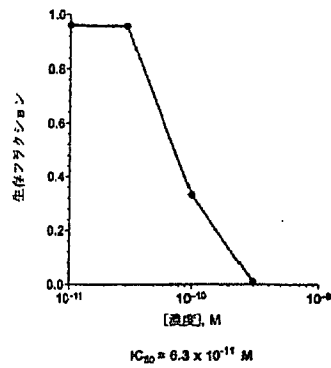
P = Ph₃C-, t-Buのような保護基

【図 8】



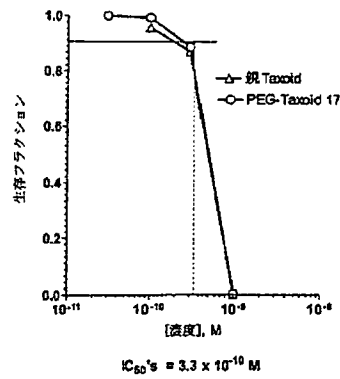
【図9】

MCF-7細胞に対するPEG-Taxoid 17のインビトロ細胞毒性



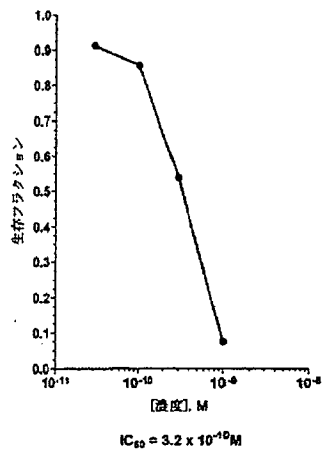
【図10】

A-431細胞に対するPEG-Taxoid 17および親PEG(Taxoid)のインビトロ細胞毒性の比較



【図11】

MCF-7細胞に対するPEG-Taxoid 20のインビトロ細胞毒性



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US03/02675									
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(7) : C07D 305/14; A61K 31/337 US CL : 549/510, 511; 514/449 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC											
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 549/510, 511; 514/449 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)											
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT <table border="1"> <thead> <tr> <th>Category *</th> <th>Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th>Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Y</td> <td>US 5,648,506 A (DESAI et al) 15 July 1997, columns 3 to 5, Tables I and II.</td> <td>1, 4-6, 22, 24-27, 29-36, 38-41, 43-50</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>US 5,824,701 A (GREENWALD et al) 20 October 1998, column 11, lines 25-42, column 12, lines 18-34.</td> <td>1, 4-6, 22, 24-27, 29-36, 38-41, 43-50</td> </tr> </tbody> </table>			Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	Y	US 5,648,506 A (DESAI et al) 15 July 1997, columns 3 to 5, Tables I and II.	1, 4-6, 22, 24-27, 29-36, 38-41, 43-50	Y	US 5,824,701 A (GREENWALD et al) 20 October 1998, column 11, lines 25-42, column 12, lines 18-34.	1, 4-6, 22, 24-27, 29-36, 38-41, 43-50
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.									
Y	US 5,648,506 A (DESAI et al) 15 July 1997, columns 3 to 5, Tables I and II.	1, 4-6, 22, 24-27, 29-36, 38-41, 43-50									
Y	US 5,824,701 A (GREENWALD et al) 20 October 1998, column 11, lines 25-42, column 12, lines 18-34.	1, 4-6, 22, 24-27, 29-36, 38-41, 43-50									
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.											
* Special categories of cited documents: *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier application or patent published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art *Z* document member of the same patent family											
Date of the actual completion of the international search 01 April 2003 (01.04.2003)		Date of mailing of the international search report 17 OCT 2003									
Name and mailing address of the ISA/US Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20231 Facsimile No. (703)305-3230		Authorized officer <i>Cherise Bell Harris</i> BR R. 11mm Telephone No. (703) 308-1235									

フロントページの続き

(74)代理人 100108899

弁理士 松本 謙

(72)発明者 チャーリー, ラビ・ブイ・ジェイ

アメリカ合衆国マサチューセッツ州02461, ニュートン, ウィンチェスター・ストリート 1
74

(72)発明者 ミラー, マイケル・ルイス

アメリカ合衆国マサチューセッツ州02144, ソマービル, ピアーソン・ロード 97, ナンバ
ー1

F ターム(参考) 4C076 AA95 CC22 CC27 CC29 CC30 CC41 EE23 EE59

4C086 AA01 AA02 AA03 BA02 MA01 MA04 NA13 NA15 ZB26

4J005 AA03 BD05

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載
 【部門区分】第3部門第2区分
 【発行日】平成18年2月9日(2006.2.9)

【公表番号】特表2005-533026(P2005-533026A)
 【公表日】平成17年11月4日(2005.11.4)
 【年通号数】公開・登録公報2005-043
 【出願番号】特願2004-505358(P2004-505358)
 【国際特許分類】

A 6 1 K 47/48 (2006.01)
 A 6 1 K 31/337 (2006.01)
 A 6 1 P 35/00 (2006.01)
 A 6 1 P 43/00 (2006.01)
 C 0 8 G 65/333 (2006.01)

【F I】

A 6 1 K 47/48
 A 6 1 K 31/337
 A 6 1 P 35/00
 A 6 1 P 43/00 1 2 3
 C 0 8 G 65/333

【手続補正書】

【提出日】平成17年12月12日(2005.12.12)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

C-7位またはC-10位にポリエチレングリコール含有連結基を含むタキサン。

【請求項2】

ポリエチレングリコール含有連結基が連結成分としてチオールまたはジスルフィドを含む、請求項1に記載のタキサン。

【請求項3】

ポリエチレングリコール含有連結基が、線状または分岐状、芳香族または複素環式基である側鎖上に有する請求項2に記載のタキサン。

【請求項4】

ポリエチレングリコール含有連結基が開裂可能である、請求項1に記載のタキサン。

【請求項5】

ポリエチレングリコール含有連結基が酸不安定性、光不安定性、ペプチダーゼ不安定性、またはエステラーゼ不安定性である、請求項1に記載のタキサン。

【請求項6】

ポリエチレングリコール含有連結基が開裂可能でない、請求項1に記載のタキサン。

【請求項7】

ポリエチレングリコール含有連結基を含む置換基が、下記の群から選択される、請求項1に記載のタキサン。すなわち、

$-(CR_{1,3}R_{1,4})_1(CH_2)_n(CR_{1,3}R_{1,4})_1(OCH_2CH_2)_nO(CR_{1,3}R_{1,4})_1(CH_2)_n(CR_{1,3}R_{1,4})_1SZ$ 、
 $-CO(CR_{1,3}R_{1,4})_1(CH_2)_n(CR_{1,3}R_{1,4})_1(OCH_2CH_2)_nO(CR_{1,3}R_{1,4})_1(CH_2)_n(CR_{1,3}R_{1,4})_1SZ$ 、
 $-CONR_{1,2}(CR_{1,3}R_{1,4})_1(CH_2)_n(CR_{1,3}R_{1,4})_1(OCH_2CH_2)_nO(CR_{1,3}R_{1,4})_1(CH_2)_n(CR_{1,3}R_{1,4})_1SZ$ 、

$-(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OCO}(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_1\text{R}_4)_1\text{SZ}$,
 $-(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{NR}_{12}\text{CO}(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_1\text{R}_4)_1\text{SZ}$,
 $-(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OCONR}_{12}(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_1\text{R}_4)_1\text{SZ}$,
 $-\text{CO}(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OCO}(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_1\text{R}_4)_1\text{SZ}$,
 $-\text{CO}(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{NR}_{12}\text{CO}(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_1\text{R}_4)_1\text{SZ}$,
 $-\text{CO}(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OCONR}_{12}(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_1\text{R}_4)_1\text{SZ}$,
 $-\text{CONR}_{12}(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OCO}(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_1\text{R}_4)_1\text{SZ}$,
 $-\text{CONR}_{12}(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{NR}_{12}\text{CO}(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_1\text{R}_4)_1\text{SZ}$

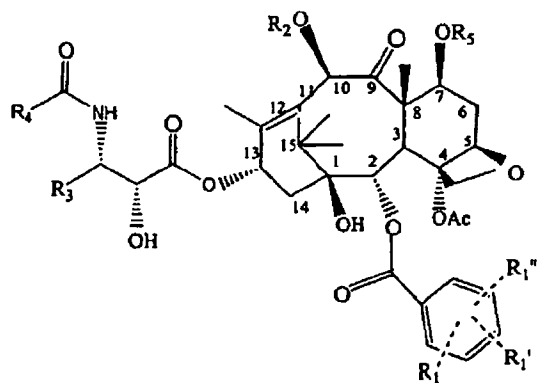
$-\text{CONR}_{12}(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OCONR}_{12}(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_1\text{R}_4)_1\text{SZ}$

$-\text{CO}-\text{モルホリノ}-\text{X}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{SZ}$, $-\text{CO}-\text{ピペラジノ}-\text{X}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{SZ}$, $-\text{CO}-\text{ピペリジノ}-\text{X}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{SZ}$, および $-\text{CO}-\text{N}-\text{メチルピペリジノ}-\text{X}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{SZ}$, (式中、ZはHまたはSRであり、Xは1～10個の炭素原子を有する線状アルキルまたは分岐状アルキルであり、RおよびR₂が同じかまたは異なりそして1～10個の炭素原子を有する線状アルキル、分岐状アルキルもしくは環状アルキルまたは1～10個の炭素原子を有する単一もしくは置換アリールまたは複素環であり、そしてR₂はさらにHであることができ、R₃ およびR₄ が同じかまたは異なり、Hもしくは1～10個の炭素原子を有する線状アルキル、もしくは分岐状アルキルもしくは環状アルキル、またはアリールを表し、lは0もしくは1～10の整数であり、mは1～10の整数であり、そしてnは2～1000である。)である。

【請求項8】

式(I):

【化1】



(I)

(式中、R₁ はH、電子吸引基、または電子供与基であり；R_{1'} およびR_{1''} は同じかまたは異なり、H、電子吸引基、または電子供与基であり；R₂ は

$-(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{O}(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_1\text{R}_4)_1\text{SZ}$,
 $-\text{CO}(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{O}(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_1\text{R}_4)_1\text{SZ}$,
 $-\text{CONR}_{12}(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{O}(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_1\text{R}_4)_1\text{SZ}$,
 $-(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OCO}(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_1\text{R}_4)_1\text{SZ}$,
 $-(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{NR}_{12}\text{CO}(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_1\text{R}_4)_1\text{SZ}$,
 $-(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OCONR}_{12}(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_1\text{R}_4)_1\text{SZ}$,
 $-\text{CO}(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OCO}(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_1\text{R}_4)_1\text{SZ}$,
 $-\text{CO}(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{NR}_{12}\text{CO}(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_1\text{R}_4)_1\text{SZ}$,
 $-\text{CO}(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OCONR}_{12}(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_1\text{R}_4)_1\text{SZ}$,
 $-\text{CONR}_{12}(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OCO}(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_1\text{R}_4)_1\text{SZ}$,
 $-\text{CONR}_{12}(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{NR}_{12}\text{CO}(\text{CR}_1\text{R}_4)_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_1\text{R}_4)_1\text{SZ}$

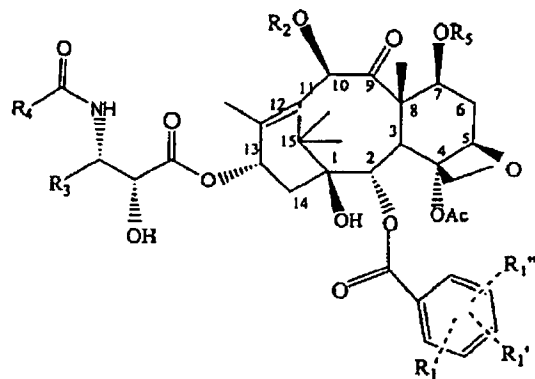
$-\text{CONR}_{12}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OCONR}_{12}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$

$-\text{CO}-\text{モルホリノ}-\text{X}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{SZ}$ 、 $-\text{CO}-\text{ピペラジノ}-\text{X}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{SZ}$ 、 $-\text{CO}-\text{ピペリジノ}-\text{X}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{SZ}$ 、および $-\text{CO}-\text{N}-\text{メチルピペラジノ}-\text{X}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{SZ}$ 、であり（式中、ZはHまたはSRであり、Xは1～10個の炭素原子を有する線状アルキルまたは分岐状アルキルであり、RおよびR₁₂は同じかまたは異なり、1～10個の炭素原子を有する線状アルキル、分岐状アルキルもしくは環状アルキルであり、または1～10個の炭素原子を有する単一もしくは置換アリールまたは複素環であり、そしてR₁₂は加えてHであることができ、R₁₃、およびR₁₄が同じかまたは異なり、Hもしくは1～10個の炭素原子を有する線状アルキル、もしくは分岐状アルキルもしくは環状アルキル、またはアリールを表し、1は0もしくは1～10の整数であり、mは1～10の整数であり、そしてnは2～1000であり、R₃はアリール、または1～10個の炭素原子を有する線状、分岐状または環状アルキルであり、R₄は $-\text{OC}(\text{CH}_3)_3$ もしくは $-\text{C}_6\text{H}_5$ であり；R₅はHであり、1～10個の炭素原子を有する線状、分岐状、もしくは環状エステルもしくはエーテルであり、または式 $-\text{CNR}_{10}\text{R}_{11}$ のカルバメート（式中、R₁₀およびR₁₁は同じかまたは異なり、H、1～10個の炭素原子を有する線状、分岐状もしくは環状アルキル、または1～10個の炭素原子を有する単一もしくは置換アリールである）である。）の化合物。

【請求項9】

式(I)：

【化2】



(I)

（式中、R₁はH、電子吸引基、または電子供与基であり、R₁'およびR₁''は同一または異なり、H、電子吸引基、または電子供与基であり、R₂はH、1～10個の炭素原子を有する複素環、線状、分岐状、または環状エステルもしくはエーテルまたは式 $-\text{CNR}_{10}\text{R}_{11}$ （式中、R₁₀およびR₁₁は同一または異なり、H、1～10個の炭素原子を有する線状、分岐状、または環状アルキル、または1～10個の炭素原子を有する単一もしくは置換アリールである）のカルバメートであり、R₃はアリールであり、または1～10個の炭素原子を有する線状、分岐状、または環状アルキルであり、R₄は $-\text{OC}(\text{CH}_3)_3$ または $-\text{C}_6\text{H}_5$ であり、そしてR₅は、

$-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{O}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$ 、
 $-\text{CO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{O}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$ 、
 $-\text{CONR}_{12}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{O}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$ 、
 $-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OCO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$ 、
 $-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{NR}_{12}\text{CO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$ 、
 $-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OCONR}_{12}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$ 、
 $-\text{CO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OCO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$ 、

$-\text{CO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{NR}_{12}\text{CO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$ 、
 $-\text{CO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OCONR}_{12}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$ 、
 $-\text{CONR}_{12}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OCO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$ 、
 $-\text{CONR}_{12}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{NR}_{12}\text{CO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$ 、
 $-\text{CONR}_{12}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OCONR}_{12}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_m(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$

$-\text{CO}-\text{モルホリノ}-\text{X}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{SZ}$ 、 $-\text{CO}-\text{ピペラジノ}-\text{X}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{SZ}$ 、 $-\text{CO}-\text{ピペリジノ}-\text{X}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{SZ}$ および $-\text{CO}-\text{N}-\text{メチルピペラジノ}-\text{X}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{SZ}$ 、(式中、ZはHまたはSRであり、Xは1～10個の炭素原子を有する線状アルキルもしくは分岐状アルキルであり、RおよびR₁₂は同じかまたは異なり、1～10個の炭素原子を有する線状アルキル、分岐状アルキルもしくは環状アルキル、または1～10個の炭素原子を有する単一もしくは置換アリールあるいは複素環であり、さらにR₁₂はHであることができ、R₁₃およびR₁₄は同じかまたは異なりHまたは1～10個の炭素原子を有する線状アルキル、分岐状アルキルもしくは環状アルキルであり、あるいはアリールであり、lは0または1～10の整数であり、mは1～10の整数であり、そしてnは2～1000である。)の化合物。

【請求項10】

R₁はH、F、NO₂、CN、Cl、CHF₂、CF₃、-OCH₃、-OCH₂CH₃、-NR₆R₇、または-OR₈である、請求項8または9に記載の化合物。

【請求項11】

R₁がOMe、OEt、Cl、F、NO₂またはCF₃である、請求項8または9に記載の化合物。

【請求項12】

R₁がメタ位にあり、R₁'がOMeであり、そしてR₁''がHである、請求項8または9に記載の化合物。

【請求項13】

R₁およびR₁''が同じかまたは異なり、H、F、NO₂、CN、Cl、CHF₂、CF₃、-OCH₃、OCH₂CH₃、-NR₆R₇、または-OR₈であり、式中、R₆およびR₇は同じかまたは異なり、各々H、1～10個の炭素原子を有する線状、分岐状、もしくは環状アルキル基であり、または1～10個の炭素原子を有する単一または置換アリールであり、そしてR₈は1～10個の炭素原子を有する線状、分岐状、もしくは環状アルキル基である、請求項8または9に記載の化合物。

【請求項14】

R₆およびR₇は同じかまたは異なり、各々H、または1～4個の炭素原子を有するアルキルもしくはアリールである、請求項13に記載の化合物。

【請求項15】

-NR₆R₇がジメチルアミノ、ジエチルアミノ、ジプロピルアミノ、またはジブチルアミノであり、ブチル成分が第一級、第二級、第三級またはイソブチルである、請求項13に記載の化合物。

【請求項16】

R₃が-CH₂CH(CH₃)₂または-CH=C(CH₃)₂である、請求項8または9に記載の化合物。

【請求項17】

R₄が-OC(CH₃)₃または-C₆H₅である、請求項8または9に記載の化合物。

【請求項18】

R₅がH、-COCH₃、-COCH₂CH₃および-COCH₂CH₂CH₃である、請求項8に記載の化合物。

【請求項19】

R₂がH、-COCH₃、-COCH₂CH₃および-COCH₂CH₂CH₃である、請求項9に記載の化合物。

【請求項20】

R₅がH、または-CONHCH₂CH₃、-CONHCH₂CH₂CH₃、-CO-モルホリノ、-CO-ピペラジノ、-CO-ピペリジノまたは-CO-N-メチルピペラジノである請求項8に記載の化合物。

【請求項21】

R_2 がH、または $-\text{CONHCH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{CONHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{CO}-\text{モルホリノ}$ 、 $-\text{CO}-\text{ピペラジノ}$ 、 $-\text{CO}-\text{ピペリジノ}$ 、または $-\text{CO}-\text{N}-\text{メチルピペラジノ}$ である、請求項9に記載の化合物。

【請求項22】

タキサンうちの少なくとも一つのC-7位またはC-10位にポリエチレングリコール含有連結基により細胞結合剤に結合された一種以上のタキサンを含む細胞毒性剤。

【請求項23】

ポリエチレングリコール含有連結基が、連結成分としてチオールまたはジスルフィドを含む、請求項22に記載の細胞毒性剤。

【請求項24】

ポリエチレングリコール含有連結基が、線状もしくは分岐状、芳香族基もしくは複素環基である側鎖上にある、請求項22に記載の細胞毒性剤。

【請求項25】

少なくとも一種のタキサンが開裂可能な連結基により細胞結合剤に連結されている、請求項22に記載の細胞毒性剤。

【請求項26】

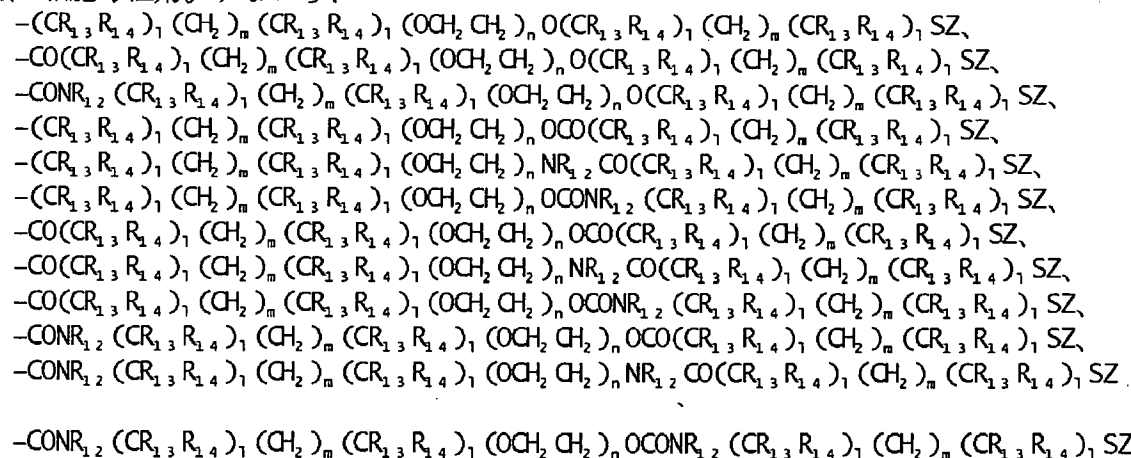
開裂可能な連結剤が、酸不安定性、光不安定性、ペプチダーゼ不安定性またはエステラーゼ不安定性である、請求項25に記載の細胞毒性剤。

【請求項27】

少なくとも一種のタキサンが開裂可能でない連結基により細胞結合剤に連結されている、請求項22に記載の細胞毒性剤。

【請求項28】

ポリエチレン含有連結基を含む置換基が下記からなる群から選択される請求項22に記載の細胞毒性剤。すなわち、



$-\text{CO}-\text{モルホリノ}-\text{X}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{SZ}$ 、 $-\text{CO}-\text{ピペラジノ}-\text{X}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{SZ}$ 、 $-\text{CO}-\text{ピペリジノ}-\text{X}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{SZ}$ 、および $-\text{CO}-\text{N}-\text{メチルピペラジノ}-\text{X}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{SZ}$ 、(式中、ZはHまたはSRであり、Xは1～10個の炭素原子を有する線状アルキルまたは分岐状アルキルであり、Rおよび R_{12} は同じかまたは異なり、1～10個の炭素原子を有する線状アルキル、分岐状アルキルもしくは環状アルキル、または1～10個の炭素原子を有する単一もしくは置換アリールもしくは複素環であり、そして R_2 はさらにHであることができ、 R_1 、および R_{14} は同じかまたは異なりHもしくは1～10個の炭素原子を有する線状アルキル、分岐状アルキルもしくは環状アルキル、またはアリールであり、lは0または1～10の整数であり、mは1～10の整数であり、nは2～1000である。)である。

【請求項29】

細胞結合剤が抗体または抗体フラグメントである、請求項22に記載の細胞毒性剤。

【請求項30】

細胞結合剤が、抗体、単鎖抗体または抗体もしくは単鎖抗体の結合性フラグメントであ

る、請求項 2 2 に記載の細胞毒性剤。

【請求項 3 1】

細胞結合剤が、モノクローナル抗体、単鎖モノクローナル抗体または単鎖モノクローナル抗体の結合性フラグメント、ヒト化したもしくは再表面処理したまたはそうしていないモノクローナル抗体またはキメラである、請求項 2 2 に記載の細胞毒性剤。

【請求項 3 2】

細胞結合剤が CD33 抗原に特異的に結合する、請求項 3 1 に記載の細胞毒性剤。

【請求項 3 3】

細胞結合剤が CD56 抗原に特異的に結合する、請求項 3 1 に記載の細胞毒性剤。

【請求項 3 4】

細胞結合剤がインターフェロン、リンホカイン、ホルモン、ビタミン、成長因子、コロンニ刺激因子、またはトランスフェリンである、請求項 2 2 に記載の細胞毒性剤。

【請求項 3 5】

細胞結合剤が、上皮成長因子、形質転換成長因子、血管内皮成長因子、繊維芽細胞成長因子、インシュリン様成長因子 1 および 2、血小板由来成長因子、メラニン細胞刺激ホルモン、甲状腺刺激ホルモン、ソマトスタチン、エストロゲン、エストロゲン類似体、アンドロゲン、アンドロゲン類似体、または葉酸である、請求項 2 2 に記載の細胞毒性剤。

【請求項 3 6】

(A) 少なくとも一つのタキサンの C-7 位または C-10 位においてポリエチレングリコール含有連結基により細胞結合剤に連結された一種以上のタキサンを含む有効量の細胞毒性剤、および

(B) 薬学的に許容できるキャリアー、希釈剤、または賦形剤を含む治療用組成物。

【請求項 3 7】

ポリエチレングリコール含有連結基が連結成分としてチオールまたはジスルフィドを含む、請求項 3 6 に記載の治療用組成物。

【請求項 3 8】

ポリエチレングリコール含有連結基が、線状の基、分岐した基、芳香族基または複素環基である側鎖上にある、請求項 3 6 に記載の治療用組成物。

【請求項 3 9】

少なくとも一つのタキサンが、開裂可能な連結基により細胞結合基に連結されている、請求項 3 6 に記載の治療用組成物。

【請求項 4 0】

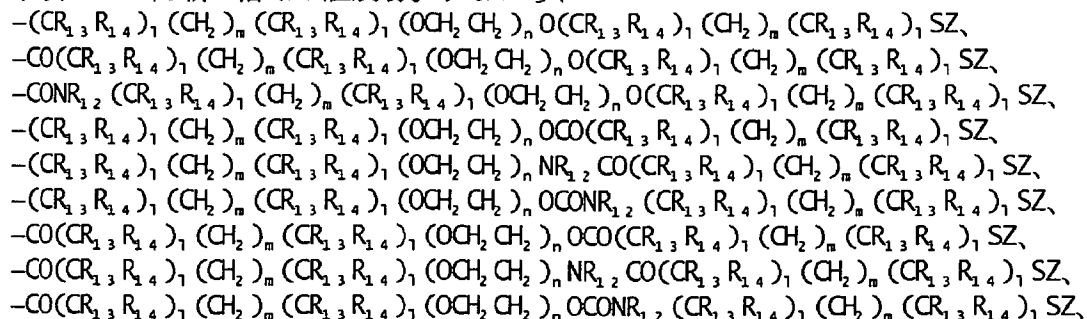
開裂可能な基が、酸不安定性、光不安定性、ペプチダーゼ不安定性またはエステラーゼ不安定性である、請求項 3 9 に記載の治療用組成物。

【請求項 4 1】

少なくとも一つのタキサンが、開裂可能でない連結基により細胞結合剤に連結されている、請求項 3 6 に記載の治療用組成物。

【請求項 4 2】

ポリエチレングリコール含有連結基を含む置換基が下記の基からなる群から選択される請求項 3 6 に記載の治療用組成物。すなわち、



$-\text{CONR}_{12}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OCO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$ 、
 $-\text{CONR}_{12}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{NR}_{12}\text{CO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$ 、
 $-\text{CONR}_{12}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OCONR}_{12}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1(\text{CH}_2)_n(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_1\text{SZ}$ 、
 $-\text{CO}-\text{モルホリノ}-\text{X}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{SZ}$ 、 $-\text{CO}-\text{ピペラジノ}-\text{X}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{SZ}$ 、 $-\text{CO}-\text{ピペリジノ}-\text{X}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{SZ}$ 、および $-\text{CO}-\text{N}-\text{メチルピペラジノ}-\text{X}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{SZ}$ （式中、ZはHまたはSRであり、Xは1～10個の炭素原子を有する線状アルキルまたは分岐状アルキルであり、Rおよび R_{12} は同じかまたは異なり、1～10個の炭素原子を有する線状アルキル、分岐状アルキルもしくは環状アルキル、または1～10個の炭素原子を有する単一もしくは置換アリールもしくは複素環であり、そして R_{12} はさらにHであることができ、 R_{13} および R_{14} は同じかまたは異なりHもしくは1～10個の炭素原子を有する線状アルキル、分岐状アルキルもしくは環状アルキル、またはアリールであり、lは0または1～10の整数であり、mは1～10の整数であり、nは2～1000である。）である。

【請求項43】

細胞結合剤が抗体または抗体フラグメントである、請求項36または37に記載の治療用組成物。

【請求項44】

細胞結合剤が抗体、単鎖抗体または抗体もしくは単鎖抗体の結合性フラグメントである、請求項36、37、38または42に記載の治療用組成物。

【請求項45】

細胞結合剤が、モノクローナル抗体、単鎖モノクローナル抗体または単鎖モノクローナル抗体の結合性フラグメント、ヒト化したもしくは再表面処理したまたはそうしていないモノクローナル抗体またはキメラである、請求項36、37、38または42に記載の治療用組成物。

【請求項46】

細胞結合剤がCD33抗原に特異的に結合する、請求項45に記載の治療用組成物。

【請求項47】

細胞結合剤がCD19抗原に特異的に結合する、請求項45に記載の治療用組成物。

【請求項48】

細胞結合剤がインターフェロン、リンホカイン、ホルモン、ビタミン、成長因子、コロニー刺激因子、またはトランスフェリンである、請求項36、37、38または42に記載の治療用組成物。

【請求項49】

細胞結合剤が、上皮成長因子、形質転換成長因子、血管内皮成長因子、繊維芽細胞成長因子、インシュリン様成長因子1および2、血小板由来成長因子、ソマトスタチン、メラニン細胞刺激ホルモン、甲状腺刺激ホルモン、エストロゲン、エストロゲン類似体、アンドロゲン、アンドロゲン類似体、または葉酸である、請求項36、37、38または42に記載の治療用組成物。

【請求項50】

請求項22～35のいずれかに記載の細胞毒性剤の細胞毒性量に標的細胞を含有する標的細胞または組織を接触させる選択された細胞集団を死滅させる方法。